



Année 2012

MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
ECOLE DOCTORALE « SCIENCES DE LA NATURE ET DE L'HOMME »
(ED 227)

N° attribué par la Bibliothèque

□□□□□□□□□□□□□□□□

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR du MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Spécialité : Biologie Végétale

Présentée et soutenue publiquement par

XAVIER AUBRIOT

Le 15 novembre 2012

SUJET

**Radiations évolutives, « innovations clés » et notions d'espèces dans le genre
Euphorbia L. à Madagascar**

Sous la direction de : **M. LOWRY II Porter Prescott, Curator,**
Missouri Botanical Garden et Muséum national d'histoire naturelle

JURY

M. DUBUISSON Jean-Yves	Professeur	Université Pierre et Marie Curie	Président
M. DESSEIN Steven	Curator	National Botanic Garden of Belgium	Rapporteur
Mme NADOT Sophie	Professeur	Université Paris-Sud	Rapporteur
M. BERRY Paul Edward	Professor	University of Michigan	Examineur
M. SAUQUET Hervé	Maître de Conférences	Université Paris-Sud	Examineur
M. HAEVERMANS Thomas	Maître de Conférences	Muséum national d'histoire naturelle	Co-encadrant
M. LOWRY II Porter Prescott	Curator	Missouri Botanical Garden et Muséum national d'histoire naturelle	Directeur de Thèse

*In the willow-meads of Tasarinan I walked in the Spring.
Ah! the sight and the smell of the Spring in Nan-tasarion!
And I said that was good.
I wandered in Summer in the elm-woods of Ossiriand.
Ah! the light and the music in the Summer by the Seven Rivers of Ossir!
And I thought that was best.
To the beeches of Neldoreth I came in the Autumn.
Ah! the gold and the red and the sighing of leaves in the Autumn in Taur-na-neldor!
It was more than my desire.
To the pine-trees upon the highland of Dorthonion I climbed in the Winter.
Ah! the wind and the whiteness and the black branches of Winter upon Orod-na-Thôn!
My voice went up and sang in the sky.
And now all those lands lie under the wave,
And I walk in Ambaróna, in Tauremorna, in Aldalómë,
In my own land, in the country of Fangorn,
Where the roots are long,
And the years lie thicker than the leaves
In Tauremornalómë.*

Treebeard, *The Lord of the Rings*, J. R. R. Tolkien.

Remerciements

Ce travail de trois ans a été rendu possible grâce à la confiance et au soutien d'un très grand nombre de personnes et d'institutions. Qu'elles aient pris part directement au travail de recherche ou qu'elles l'aient facilité, je tiens à toutes les en remercier.

Mes premiers mots vont à ma famille. Dans l'adversité comme dans la joie, j'y ai toujours trouvé l'écoute et le soutien sans lesquels tout ce travail aurait été impossible. J'ai une pensée particulière pour mes parents et mon frère qui m'ont toujours encouragé à poursuivre mes rêves et à profiter pleinement de la vie. Cette thèse, c'est aussi la vôtre.

Mes pensées les plus tendres, je les dédie à Charlotte, pour le beau voyage que nous avons accompli depuis Place d'Italie. Le poids de la thèse, parfois difficile à supporter, s'est révélé bien plus léger avec toi à mes côtés. Plus que tout, c'est ta confiance, ton courage et ton amour qui m'ont permis de terminer ce travail dans de bonnes conditions. C'est donc autant le tien que le mien.

Je remercie Jean-Noël Labat de m'avoir accueilli au sein du Laboratoire de Phanérogamie, il y a maintenant près de six ans. Sa disparition nous a tous profondément affecté et ce travail, qu'il aurait été fier de lire, je le lui dédie tout particulièrement.

Un très grand merci à Thomas Haevermans et à Pete Lowry pour leur encadrement, leur aide, leurs conseils et leur soutien indéfectible pendant toutes ces années. Ils m'ont permis de réaliser ma thèse dans les meilleures conditions possibles, m'on fait découvrir la belle île de Madagascar et le méticuleux travail de chercheur. Merci tout particulièrement à Thomas de m'avoir grandement assisté dans la recherche des moyens financiers et techniques qui m'ont permis d'effectuer des missions de terrain à Madagascar et d'assister au Congrès International de Botanique à Melbourne (2011). En souvenir de notre travail constant et appliqué tout au long de ces années, des bons moments passés dans la brousse à Ampanihy ou à Beraketa, un très grand merci. Les conseils tout le temps avisés de Pete, son maniement élégant et précis des langues de Molière et de Kerouac, ainsi que son éternelle bonne humeur m'ont été d'une grande aide dans la « dernière ligne droite » ; je l'en remercie chaleureusement.

Merci à tous les membres du jury, Steven Dessein, Sophie Nadot, Jean-Yves Dubuisson, Paul Berry et Hervé Sauquet d'avoir accepté de consacrer un peu de leur temps à la lecture de mon manuscrit.

Je tiens à remercier l'ensemble des projets qui m'ont apporté leur soutien financier dans le cadre de mes missions de terrain, de mes travaux de laboratoire et de mes participations à des congrès internationaux : l'ATM MNHN « Taxonomie moléculaire : DNA barcode et gestion durable des collections », l'ATM MNHN « Biodiversité actuelle et fossile. Crises, stress, restaurations et panchronisme : le message systématique », le projet Sud Expert Plantes et l'ANR EVORANGE 6^{ème} extinction (ANR-09-PEXT-011), le projet NSF EuphORBia PBI. Merci à l'équipe du BoEM de m'avoir accueilli pour effectuer mes travaux de biologie moléculaire. Je remercie enfin le Centre National de Séquençage (Genoscope) qui m'a permis d'obtenir les très nombreuses séquences d'ADN nécessaires à ce travail.

« Misaotra betsaka » à toutes les personnes qui m'ont fait connaître la Grande Île. Si mes travaux de récoltes se sont toujours bien déroulés je le dois avant tout à la collaboration du CNRE et à l'aide des scientifiques qui y travaillent. Mes pensées se tournent avant tout

vers Jaona Ranaivo et Daniel Razafimamonjy qui m'ont accompagné sur le terrain et m'ont fait bénéficier de leur grande expérience et de leur bonne humeur à toute épreuve. Un grand merci à Jacques Tahinarivony sans qui notre dernière mission sur la presque île d'Ampasindava n'aurait pu aboutir. Merci à toute l'équipe du MBG Madagascar de m'avoir apporté tout le soutien matériel et humain nécessaire. Je remercie tout particulièrement Pete Philipson et Lalao Andriamahefarivo qui m'ont accueilli dans la maison d'hôte du MBG à Antananarivo, m'ont aidé à obtenir de l'aide logistique et à effectuer les formalités administratives. Merci enfin à Laurent Gautier et Louis Nusbaumer, pour l'aide qu'ils m'ont fourni lors de la préparation de mes missions de terrain.

De nombreux collègues ont contribué à m'aider directement dans le travail de recherche ou au cours des missions à Madagascar. Mes premières pensées vont à Margaret Evans qui m'a initié au travail de modélisation statistiques sous R et qui s'est révélé être une amie en plus d'une collègue. Sans son aide et ses conseils, une partie de cette thèse ne serait pas là. Je tiens à remercier tout particulièrement Lucile Allorge de m'avoir fait profiter, directement sur le terrain, de sa très grande connaissance de la flore malgache et de m'avoir soutenu tout au long de ma thèse. Merci à David Hearn d'avoir été un compagnon de récolte passionné et joyeux. Un grand merci à Martin Callmander pour l'aide qu'il m'a fourni et pour tous les bons moments que nous avons passé ensemble, à Madagascar comme à Paris. Je souhaite adresser de profonds remerciements à toute l'équipe du projet EuphORBia PBI avec qui je travaille depuis plus de 5 ans, tout particulièrement à Paul Berry, Ricarda Riina, Brian Dorsey, Ya Yang et Kenneth Wurdack.

Je ne saurais remercier assez Anaëlle Soulebeau, Maxime Lanciaux, Tristan Cheminel, Ly Ngoc-Sam et Lucianno Zafilahy avec qui j'ai travaillé durant ces trois années. Mention spéciale à Anaëlle qui est elle aussi tombée dans la marmite des euphorbes et va connaître cette année sa première année en tant que doctorante. Bon courage !

Merci à tous mes collègues du Muséum, et tout particulièrement à Ehoarn, Élodie, Gwenaël, Medhi, Benoît, Marie, Vanessa, Sabine, Béragère, Caroline, Martine, Thierry, Gérard, Cécile, Odile, Germinal et Myriam qui m'ont quotidiennement apporté aide, soutien (et divertissement) au cours de mes longues années d'études. Un grand merci à Agathe (et à Ethan !) pour toutes les illustrations d'euphorbes qu'elle a soigneusement réalisées. Je tiens à remercier tous mes amis et collègues doctorants du Muséum et de Paris VI, tout particulièrement Adèle, François, Adrien P., Julie, Anne-Claire, Charlotte, Jérémie et Justine pour tous les moments que nous avons passés ensemble durant ces trois années, parfois dans le désespoir et la fatigue, mais le plus souvent dans la joie, un verre à la main. Merci à mes colocataires Colin, Claire, Adrien B., notamment pour m'avoir encouragé par des petits plats et des petits verres, lors des veillées tardives de ma fin de thèse.

Enfin, je n'oublierai pas tous mes amis proches pour qui la botanique est un sujet plus ou moins lointain. Par leur bonne humeur et leur amitié ils m'ont permis de mieux supporter les quelques moments de crise et de bien profiter de tous les jours de fête. Merci donc à Yoann, Guillaume, Laëtitia, Camille, Louis, Yves, Tomate, Keuni, Stéphane, Krustof, Sébastien(s), Élise, Jennifer, Vincent, Héloïse, Damien, Manf, Stéphane, Charlotte R., Emmanuel, Alexandre, et à tout ceux que j'ai oublié mais qui se reconnaîtront...

Merci encore à tous !

Résumé

Géant parmi les plantes à fleurs, le genre *Euphorbia* L. (~ 2000 taxa) est caractérisé par une diversité morphologique impressionnante et une distribution cosmopolite. Toutes les espèces d'euphorbes présentent néanmoins une inflorescence très condensée, qui mime une fleur hermaphrodite et constitue la synapomorphie morphologique du genre. La variabilité morphologique des euphorbes, notamment lorsqu'elle est mise en relation avec leurs milieux de vie, constitue un sujet d'étude *a priori* particulièrement prometteur pour amorcer une description formelle des liens entre les plantes et leurs conditions environnementales. Malheureusement, ces travaux sont limités par notre connaissance parcellaire du genre tant au niveau de son alpha-taxonomie que de son histoire évolutive. Cette étude a utilisé l'exemple des euphorbes malgaches (~ 10% de la richesse spécifique du genre) pour explorer les notions d'espèces et de diversification dans le genre *Euphorbia*. En premier lieu, nous avons révisé la taxonomie d'un groupe d'euphorbe malgache encore peu documenté, le groupe d'*E. pachysantha* ; deux espèces nouvelles pour la science ont été décrites. En vue de fournir une méthode d'identification sûre et rapide des espèces d'euphorbes malgaches, nous avons testé l'approche du barcoding ADN ; le succès rencontré nous permet de suggérer la généralisation de l'utilisation de cet outil à l'ensemble du genre. Nous avons étudié la diversification dans le temps d'un clade d'euphorbes malgaches hyper-diversifié, le clade GDD (*Euphorbia* sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli*). Les reconstructions phylogénétiques inférées à partir de huit régions de l'ADN nucléaire et chloroplastique et d'un échantillonnage représentatif de la diversité spécifique du clade, ont été placées dans un cadre chronologique. À l'aide de méthodes statistiques, nous avons caractérisé le tempo de diversification du clade GDD au cours du temps. Dans le but d'élucider les liens entre la diversité morphologique des espèces de ce clade et leurs conditions environnementales, nous avons testé les relations entre quelques grands traits morphologiques et un jeu de variables climatiques ; des associations entre l'évolution de la succulence au sein de la section *Goniostema* et certaines variables climatiques ont été mises au jour. Compte tenu des avancées récentes dans la connaissance du genre *Euphorbia*, nous suggérons une extension de tous ces types de travaux à l'échelle du genre.

MOTS CLÉS : *Euphorbia*, Madagascar, Taxonomie, Barcoding ADN, Phylogénie, Diversification, Modélisation de niches climatiques.

Abstract

A giant among the flowering plants, the genus *Euphorbia* L. (~ 2000 taxa) is characterized by an impressive morphological diversity and a cosmopolitan distribution. Nonetheless, all species of *Euphorbia* share a very condensed inflorescence that mimics a bisexual flower and constitutes the main morphological synapomorphy of the genus. The morphological diversity of the spurges, especially when it is associated with their habitats, becomes a particularly promising subject to attempt a more formal description of the ties between the plants and their environmental conditions. Unfortunately, these studies are limited by our incomplete knowledge of the genus both at the alpha taxonomy level as well as its evolutionary history. This study uses the example of the Malagasy euphorbias (with around 10% of the species richness of the genus) to explore the concepts of species and their diversification in *Euphorbia*. As a first step, we revised the taxonomy of a poorly documented group of Madagascan euphorbias, the group of *E. pachysantha*, including the description of two species new to science. In order to provide a reliable and quick method to identify Madagascan euphorbias, we tested a DNA barcoding approach; the success of this method suggests that it may be more widely applicable in the genus. We also tested the diversification in time of a clade of hyper-diverse Malagasy euphorbias, namely the GDD clade (*Euphorbia* sections *Goniostema*, *Denisophorbia* and *Deuterocalli*). The phylogenetic reconstructions inferred from sequences of eight chloroplast and nuclear DNA regions and a representative sampling of the species diversity of the clade were placed within a chronological context. Using appropriate statistical techniques, we characterized the tempo of diversification of the GDD clade through time. With the aim of elucidating the ties between the morphological diversity of the species of this clade and their environmental conditions, we tested the relationships among several major morphological traits and a series of climatic variables; several associations between the evolution of succulence and some climatic variables have been discovered. Taking into account the recent advances in our knowledge of *Euphorbia* worldwide, we suggest that all these kinds of studies should be applied to the rest of the genus.

KEY WORDS : *Euphorbia*, Madagascar, Taxonomy, DNA barcoding, Phylogeny, Diversification, Niche modelling.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre 1 : Introduction générale sur le genre <i>Euphorbia</i> L.	3
I. Le genre <i>Euphorbia</i>	3
II. Classification et phylogénie du genre <i>Euphorbia</i>	3
III. Principales caractéristiques morphologiques des euphorbes	6
1. <i>Appareil reproducteur : le cyathium, les fruits et les graines</i>	6
2. <i>Appareil végétatif : morphologie générale, organes végétatifs</i>	8
IV. Le genre <i>Euphorbia</i> à Madagascar	11
1. <i>Classification, phylogénie et description des euphorbes malgaches</i>	12
2. <i>Description des grands clades d'euphorbes malgaches</i>	15
3. <i>Répartition géographique des euphorbes malgaches</i>	42
4. <i>Conservation et critères IUCN pour les euphorbes malgaches</i>	47
V. Problématiques du travail de thèse	48
Chapitre 2 : Matériels et protocoles : échantillonnage et travaux de laboratoire	51
I. Acquisition du matériel d'étude	51
1. <i>Quel échantillonnage pour ce travail de thèse ?</i>	51
2. <i>Collections d'exsiccata et de matériel en alcool utilisées</i>	52
3. <i>Investigation des collections vivantes les plus importantes</i>	53
4. <i>Travaux de terrain à Madagascar</i>	54
5. <i>Acquisition des données morphologiques, géographiques et écologiques</i>	57
II. Constitution de l'échantillonnage moléculaire	59
1. <i>Nature de l'échantillonnage taxonomique et extraction de l'ADN</i>	59
2. <i>Exploration et sélection des régions de l'ADN</i>	61
3. <i>Amplification, séquençage et édition des régions de l'ADN sélectionnées</i>	64
4. <i>Méthodes d'analyse</i>	65

Partie 1 : Sur le concept d'espèces dans le genre *Euphorbia* à Madagascar : Taxonomie traditionnelle et barcoding ADN.....67

*Chapitre 3 : Taxonomic revision of the Malagasy endemic and enigmatic *Euphorbia pachysantha* Baill. Group (in prep.)..... 69*

*Chapitre 4 : DNA Barcoding in a biodiversity hotspot: potential value for the identification of Malagasy *Euphorbia* L. listed in CITES Appendices I and II (sous presse)..... 97*

Partie 2 : Analyses phylogénétiques, diversification et évolution de niches climatiques : l'exemple du clade GDD (*Euphorbia* sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli*)..... 111

*Chapitre 5 : Phylogénie d'*Euphorbia* sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli* à Madagascar..... 113*

I. Introduction..... 113

II. Matériel et Méthodes 116

1. *Echantillonnage taxonomique 116*

2. *Méthodes d'alignement, et codage des zones d'inversions et des insertions-délétions 117*

3. *Analyses séparées des marqueurs 118*

4. *Traitement des incongruences topologiques 121*

5. *Analyses combinées des marqueurs et datation moléculaire 122*

6. *Détermination de la zone bioclimatique occupée par les euphorbes du clade GDD 126*

III. Résultats 126

1. *Régions chloroplastiques : *rbcL*, *matK*, *psbA-trnH*, *atpI-atpH*, *ndhA*, *trnQ-5' rps16* 127*

2. *Analyse combinée des marqueurs chloroplastiques..... 134*

3. *Régions nucléaires : ITS et ETS..... 137*

4. Analyse combinée des régions nucléaires	142
5. Analyse combinée des huit régions nucléaires et chloroplastiques	145
6. Estimation des temps de divergence.....	154
IV. Discussion	154
1. Incongruences topologiques.....	154
2. Monophylie des concepts infra-génériques.....	156
3. Phylogénie et morpho-écologie des trois sections du clade GDD et des clades de la section <i>Goniostema</i>	158
4. Estimation des temps de divergences pour le clade GDD	163
V. Conclusions et perspectives	165

Chapitre 6 : Diversification et évolution morphologique dans <i>Euphorbia</i> sections <i>Goniostema</i>, <i>Denisophorbia</i> et <i>Deuterocalli</i> à Madagascar	167
I. Introduction	167
II. Matériel et Méthodes	169
1. Echantillonnage taxonomique.....	169
2. Exploration des tempi de diversification.....	174
3. Codage des données morphologiques	178
4. Reconstruction de l'histoire évolutive des traits morphologiques	181
III. Résultats	182
1. Estimation des tempi de diversification	182
2. Reconstruction de l'histoire évolutive des traits morphologiques	186
IV. Discussion	195
V. Conclusion et perspectives	196

Chapitre 7 : Weird plants in a special place: the evolution of succulence and growth form in a Malagasy radiation of <i>Euphorbia</i> (in prep.)	199
---	-----

Chapitre 8 : Conclusion générale & Perspectives	219
--	-----

Références bibliographiques	223
--	-----

Annexes	251
----------------------	-----

Introduction

Le genre *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae, Malpighiales) est l'un des « genres géants » de plantes à fleurs : il compte 1850 à 2000 taxa (espèces et taxa infra-spécifiques compris) et présente une distribution cosmopolite (Govaerts et al. 2000, Steinmann & Porter 2002, Mabberley 2008). Depuis sa description, ce genre regroupe des espèces qui partagent un type d'inflorescence originale, le cyathium, qui constitue la synapomorphie morphologique du groupe. Cette inflorescence pseudanthiale, forme très condensée et de petite taille d'une structure multiaxiale, mime une fleur hermaphrodite (Steinmann & Porter 2002, Horn et al. 2012). Fondamentalement bisexués, les cyathes sont formés d'une coupe bractéale qui entoure les fleurs mâles (réduites à des étamines) et l'unique fleur femelle (réduite à un seul pistil). La coupe du cyathium est munie de glandes nectarifères et elle est souvent axillée par des bractées pétaoloïdes plus ou moins développées. Tous les caractères inflorescentiels sont sujets à une importante variabilité, ce qui a constitué (avec certains caractères végétatifs) la base historique de la classification du genre. Concernant l'appareil végétatif, il s'agit d'un genre particulièrement polymorphe chez lequel la diversité spécifique est combinée à une impressionnante variabilité morphologique (Steinmann & Porter 2002, Horn et al. 2012).

Le genre *Euphorbia* présente ainsi toutes les caractéristiques d'un groupe d'étude prometteur pour l'exploration des questions liées aux processus de diversification. Ces travaux se heurtent néanmoins à la connaissance encore parcellaire que nous avons de la diversité du genre. Au niveau alpha-taxonomique, en dépit de plus de 200 années de descriptions ininterrompues d'espèces d'euphorbes par les botanistes, de nombreux nouveaux taxa restent encore non-décrits. Le processus de description d'espèce est compliqué par le fait qu'une partie des espèces décrites est sous-récoltée et que leur circonscription, leurs caractéristiques morphologiques et leur écologie demeurent ambiguës.

Les analyses phylogénétiques du genre (i.e. l'investigation des liens de parenté entre espèces d'euphorbes) ont été initiées en 2002 par Steinmann & Porter au cours de travaux basés sur un large échantillonnage mondial du genre *Euphorbia* et des genres proches. À compter de cette date, les reconstructions phylogénétiques se sont multipliées, faisant varier considérablement le nombre de taxa et de caractères impliqués. La systématique traditionnelle du genre a été profondément bouleversée par les résultats de ces études phylogénétiques, conduisant notamment à de nouvelles circonscriptions du genre et des rangs infra-génériques qui le composent (Bruyns et al. 2006, Yang et al. 2012, Dorsey et al. sous presse).

Les euphorbes malgaches représentent près de 10% du nombre total d'espèces estimé pour le genre (Haeuermans et al. 2009, Dorsey et al. sous presse). Elles sont à ~ 95% endémiques de Madagascar et présentent une impressionnante diversité morphologique et écologique. En dépit (ou en raison) de cette exceptionnelle diversité, les euphorbes malgaches ont fait l'objet d'un nombre réduit de traitements taxonomiques et phylogénétiques globaux (Haeuermans 2003, Rebmman 2007, et Rauh 1995, 1998 pour les taxa succulents). Leur classification est restée à l'état d'ébauche et en raison des difficultés d'accès aux lieux de récolte, de nombreuses espèces sont sous-récoltées et sous-documentées.

Le travail de thèse présenté ici a plusieurs buts majeurs : **(1)** Contribuer à l'amélioration de l'alpha-taxonomie des euphorbes malgaches ; **(2)** Déterminer s'il est possible de mettre au point une méthode d'identification précise, rapide et automatisée des euphorbes malgaches, notamment dans le cadre de la réglementation CITES ; **(3)** Explorer les processus et les moteurs de la diversification des euphorbes malgaches, en se focalisant sur l'histoire évolutive d'un grand clade d'euphorbes malgaches, le clade GDD (i.e. le clade qui regroupe les sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli*).

Chapitre 1

Introduction générale sur le genre *Euphorbia* L.

I. Le genre *Euphorbia*

Le genre *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae, Malpighiales, Fabidées, Rosidées, Eudicotylédones, Angiospermes) est, après le genre *Astragalus* L. (Fabaceae), le second genre d'Angiospermes en termes de nombre d'espèces (1850 à 2000 taxa) et compte pour environ le tiers de la famille ; il présente en outre une distribution cosmopolite (Govaerts et al. 2000, Steinmann & Porter 2002, Wurdack et al. 2005, Mabberley 2008, APG III 2009). Il n'existe pas de révision taxonomique satisfaisante du genre ; l'unique monographie, rédigée il y a 150 ans par Boissier (1862, 1866), ne prend en compte qu'environ 35% des espèces décrites aujourd'hui. Depuis cette date, les travaux systématiques restreints et les flores locales se sont multipliés mais n'ont conduit à aucune révision générale du genre.

Nous fournissons ci-dessous un résumé de la systématique du genre en présentant les systèmes classificatoires les plus utilisés au cours de l'histoire ainsi que les principaux résultats des analyses phylogénétiques menées à ce jour. Nous décrirons ensuite les caractéristiques morphologiques majeures du genre.

II. Classification et phylogénie du genre *Euphorbia*

Les circonscriptions de la famille des Euphorbiaceae et du genre *Euphorbia* sont depuis longtemps sujettes à controverse. Aujourd'hui limitée pour la majorité des auteurs aux sous-familles Euphorbioideae, Acalyphoideae et Crotonoideae (Euphorbiaceae strictu sensu), la famille des Euphorbiaceae a souvent été étendue aux familles des Pandacaceae, Phyllanthaceae, Picrodendraceae, et Putranjivaceae (Euphorbiaceae sensu lato), assemblage qui s'est révélé paraphylétique (voir Webster 1987, Webster 1994, Wurdack et al. 2005, APG III 2009).

Le genre *Euphorbia* (sous-famille des Euphorbioideae, tribu des Euphorbieae, sous-tribu des Euphorbiinae fide Webster 1994 et Wurdack et al. 2005) tel que défini dans sa forme stricte (s.str.) est paraphylétique (Steinmann & Porter 2002, Wurdack et al. 2005). Il a été montré récemment que les genres *Chamaesyce* Gray, *Cubanthus* (DC.) Millsp., *Elaeophorbia* Stapf, *Endadenium* L. C. Leach, *Monadenium* Pax, *Pedilanthus* Neck.,

Poinsettia R. Grah. et *Synadenium* Boiss. forment avec le genre *Euphorbia* s.str. un ensemble monophylétique statistiquement soutenu et caractérisé par la présence d'une inflorescence singulière, le cyathium (inflorescence pseudanthiale typique du groupe) (Steinmann & Porter 2002, Wurdack et al. 2005, Prenner & Rudall 2007). Ces résultats ont amené certains auteurs à se questionner sur la meilleure stratégie à adopter entre un éclatement du genre *Euphorbia* s.str. en plusieurs genres, définis sur la base des grands clades décrits par Steinmann & Porter (2002), ou la reconnaissance d'un genre *Euphorbia* au sens large du terme (s.lat.) (= sous-tribu des Euphorbiinae) comme circonscription de référence du genre (ce qui implique la mise en synonymie des genres associés). C'est la seconde option qu'ont choisi Steinmann et al. (2003, 2007) et Bruyns et al. (2006) en traitant les genres *Pedilanthus* (Steinmann 2003), *Cubanthus* (Steinmann et al. 2007), *Monadenium*, *Synadenium* et *Endadenium* (Bruyns et al. 2006) comme des synonymes taxonomiques d'*Euphorbia*. L'inclusion de ces genres au sein d'un genre *Euphorbia* élargi s'inscrit dans un débat classificatoire plus de deux fois centenaire qui oppose les tenants d'un genre *Euphorbia* divisé en divers rangs infra-génériques (sous-genres ou sections) (voir Boissier 1862 et 1866, Webster 1975), à ceux plus nombreux qui élèvent ces groupes taxonomiques au rang générique (voir Haworth 1819, Rafinesque 1836, Klotzsch & Garcke 1860, Necker 1970). Encore récemment, la classification du genre est constituée de plusieurs sous-genres et de nombreuses sections et sous-sections (Boissier 1862, Bentham & Hooker 1880, Pax & Hoffman 1931, Wheeler 1943) Basés sur des grands patrons morphologiques (formes de vie, succulences des tiges, morphologies des formations stipulaires), ces groupes infra-génériques sont en réalité d'une grande hétérogénéité morphologique et présentent des circonscriptions faiblement argumentées. C'est par exemple le cas des sous-genres *Rhizanthium* et *Tithymalus* sensu Wheeler 1943 qui regroupent respectivement toutes les espèces dites « géophytes » et quasiment toutes les espèces succulentes (Gilbert 1987).

Aujourd'hui, la systématique du genre est en pleine refonte et se base sur les études phylogénétiques pour améliorer la circonscription taxonomique et la nomenclature des rangs infra-génériques. Initiées par les travaux de Steinmann & Porter (2002), les études phylogénétiques du genre *Euphorbia* L. ont permis de mettre en évidence la paraphylie du genre *Euphorbia* s.str. et de définir un genre *Euphorbia* au sens large (s.lat.) qui regroupe les espèces des genres *Chamaesyce*, *Cubanthus*, *Elaeophorbia*, *Endadenium*, *Monadenium*, *Pedilanthus*, *Poinsettia*, *Synadenium* et *Euphorbia* s.str. au sein de 4 grands clades (ou sous-genres), le clade A [subg. *Rhizanthium* (Boiss.) Wheeler], le clade B (subg. *Esula* Pers), le clade C (subg. *Euphorbia*) et le clade D (subg. *Chamaesyce* Raf.) (Figure I.1.). Ces études ont

en outre montré que la grande majorité des groupes taxonomiques reconnus par les classifications infra-génériques traditionnelles ne sont pas satisfaisantes car le plus souvent paraphylétiques ou polyphylétiques ; elles suggèrent de reconsidérer les subdivisions du genre sur la base du critère de monophylie.

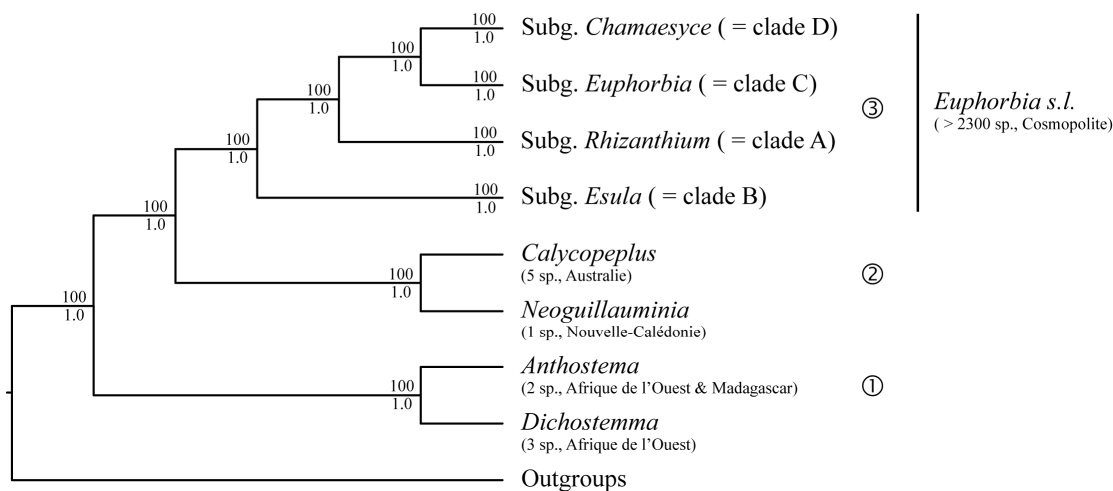


Figure I.1 Arbre phylogénétique résumant les relations de parenté au sein de la tribu des *Euphorbieae* en se basant sur les résultats des analyses de Zimmermann et al. 2010, Bruyns et al. 2011 et Horn. et al. 2012. Les soutiens statistiques de chaque nœud sont donnés (les valeurs de Bootstrap concernant l'analyse d'Horn. et al. 2012). Clade ① = sous-tribu des Anthosteminae, Clade ② = sous-tribu des Neoguillaumininae, Clade ③ = sous-tribu des Euphorbiinae (= genre *Euphorbia* s.lat.). L'estimation du nombre d'espèces et la répartition globale de chaque taxon sont fournies entre parenthèses.

La résolution des liens de parenté entre les 4 grands sous-genres d'*Euphorbia* a été affinée au fur et à mesure des analyses phylogénétiques. Les analyses récentes basées sur un large échantillonnage taxonomique ainsi que sur une combinaison des régions chloroplastiques et nucléaires de l'ADN présentent une histoire statistiquement fiable des relations de parenté entre ces groupes (Zimmermann et al. 2010, Bruyns et al. 2011, Horn et al. 2012) (Figure I.1.). Le genre *Euphorbia* s.lat. est successivement le plus proche parent des sous-tribus des Neoguillaumininae (i.e. les genres *Calycopeplus* Planch. et *Neoguillauminia* Croizat) et des Anthosteminae (i.e. les genres *Anthostema* A. Juss. et *Dichostemma* Pierre) (Steinmann & Porter 2002, Wurdack et al. 2005, Bruyns et al. 2011, Horn et al. 2012). Au sein d'*Euphorbia* s.lat. le premier clade à diverger est le sous-genre *Esula* (clade B ; ca. 500 espèces) qui est majoritairement représenté par des espèces herbacées des zones tempérées de l'hémisphère nord, mais aussi par quelques espèces arborescentes ou à tiges succulentes (Macaronésie et Afrique) (Molero et al. 2002, Barres et al. 2011). Il est suivi par le sous-genre *Rhizanthium* (clade A ; ca. 200 espèces), présent majoritairement en Afrique et tout particulièrement dans le sud de l'Afrique où les formes xérophytes sont très diversifiées. Ce sous-genre est apparenté aux sous-genres *Euphorbia* et *Chamaesyce*. Le sous-genre *Euphorbia* (Clade C ; ca. 700 espèces) est le plus diversifié de tous, tant au niveau de la richesse spécifique que des

formes de vies des espèces. Présent dans les écozones néotropicale et indomalaisienne, ce sous-genre est particulièrement diversifié en Afrique et à Madagascar (Bally 1961, Carter 1994, Haevermans 2003, Dorsey et al. sous presse¹). Le sous-genre *Chamaesyce* (Clade D ; ca. 600 espèces) comprend la majorité des espèces d'euphorbes du Nouveau-Monde. Il inclut notamment toutes les espèces des anciens genres *Chamaesyce* et *Poinsettia* (Steinmann & Porter 2002, Yang et al. 2011, Yang et al. 2012²).

La circonscription des 4 sous-genres et la résolution de leurs positions phylogénétiques relatives a ouvert la voie à une série de travaux visant à résoudre leurs relations de parenté internes en fournissant notamment un système classificatoire satisfaisant. Les sous-genres *Euphorbia* et *Chamaesyce* ont ainsi été divisés en de multiples sections sur la base d'analyses phylogénétiques de grandes ampleurs (Yang et al. 2012, Dorsey et al. sous presse).

Tel qu'il est circonscrit actuellement, le genre *Euphorbia* a une distribution cosmopolite et se retrouve dans toutes les régions du monde à l'exception des régions polaires. Principalement connu à travers les espèces xérophytes des milieux arides ou sub-arides, le genre occupe tous les types d'environnement, exception faite du milieu aquatique strict (certaines espèces vivent néanmoins dans les zones humides, les pieds dans l'eau). Les euphorbes sont particulièrement diversifiées en Afrique et aux points chauds de biodiversité que sont Madagascar et le sud de l'Afrique (Bruyns et al. 2011, Myers et al. 2000).

III. Principales caractéristiques morphologiques des euphorbes

1. Appareil reproducteur : le cyathium, les fruits et les graines

L'inflorescence des euphorbes a, depuis la description du genre (Linnaeus 1753), été remarquée comme un organe remarquable. Particulièrement homogène au niveau de sa structure, l'originalité de cette inflorescence lui a assuré une dénomination spécifique, cyathium ou cyathe en français (du Grec κύαθος signifiant vase). Décrit au début comme une fleur hermaphrodite traditionnelle (Linnaeus 1753 mais aussi repris par Payer 1857 et Baillon 1858), le cyathium a depuis longtemps été reconnu comme une inflorescence de petite taille (Lamarck 1786, Jussieu 1789, Brown 1814).

¹ Article en annexe (Annexe I.1).

² Article en annexe (Annexe I.2).

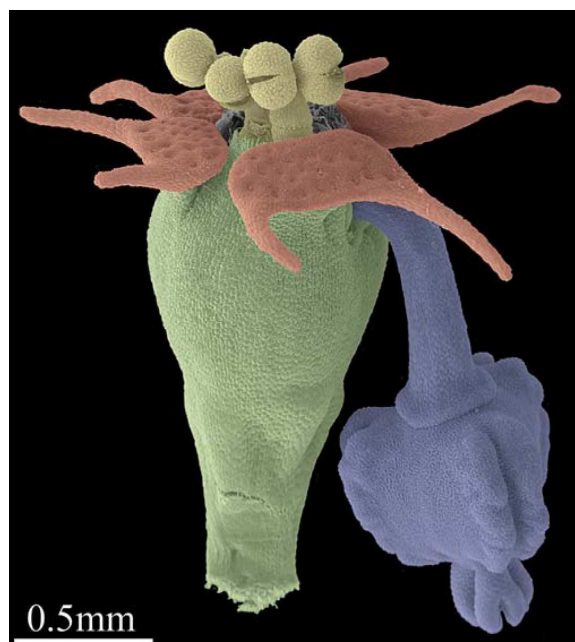


Figure I.2. Photomicrographie colorée d'un cyathium d'*Euphorbia esula* prise au microscope électronique à balayage. La coupe est colorée en vert, les glandes nectarifères en rouge, les fleurs mâles en jaune et l'unique fleur femelle en bleu (source : Prenner & Rudall 2007).

Il s'agit d'une structure florale très condensée qui mime une fleur hermaphrodite (Figure I.2.). Les fleurs mâles et l'unique fleur femelle sont regroupées au sein d'un involucre en forme de coupe qui résulte d'une soudure des bractées axillant les cymes de fleurs mâles. La fleur femelle tricarpellée³ est en position terminale, entourée par 4 à 5 groupes de fleurs mâles, toutes les fleurs étant apérianthées⁴ et portées par des pédicelles. Des bractéoles – des bractées de petite taille plus ou moins laciniées et pubescentes – sont soudées à la base des pédicelles des fleurs mâles. Les bractées de la coupe du

cyathium sont le plus souvent munies de glandes nectarifères qui présentent éventuellement des appendices de forme et de taille variées. Chez un grand nombre d'espèces, les cyathia sont axillés par des bractées (appelées cyathophylles) dont la taille, la forme ou la coloration varient considérablement d'un groupe à l'autre et d'une espèce à l'autre (Figure I.10.).

D'un point de vue évolutif, tous les genres de la tribu des Euphorbieae [Euphorbiinae (= *Euphorbia* s.lat.) + Neoguillaumininae + Anthosteminae] présentent une inflorescence de type pseudanthiale qui constitue la synapomorphie majeure du groupe⁵ (Blume 1825, Eichler 1878). Les travaux ontogéniques de Prenner & Rudall (2007) ont montré que le cyathium des euphorbes est une forme particulière de pseudanthe, à mi-chemin entre une inflorescence et une fleur hermaphrodite [“hybrid” flower/inflorescence (*sic*)], qui aurait vraisemblablement dérivée d'un thyse (i.e. une synflorescence de cymes axillaires bisexuées) composé d'une fleur femelle terminale entourée d'inflorescences mâles dichasiales. Compte tenu de la richesse spécifique du genre *Euphorbia* s.lat. (notamment par rapport aux autres sous-tribus

³ Toutes les espèces de la sect. *Pervilleanae* et plusieurs espèces de la sect. *Pachysantae* (toutes deux endémiques de Madagascar) sont caractérisées par des fleurs femelles bicarpellées (et des capsules bicoques).

⁴ Les espèces malgaches de la sect. *Tirucalli* ont la particularité de porter une ébauche de calice, qui persiste généralement après la déhiscence de la capsule (Haevermans 2003).

⁵ Au sein des *Euphorbiaceae* les genres *Dalechampia* L. et *Pera* Mutis possèdent eux aussi des inflorescences pseudanthiales (Pax and Hoffmann 1931, Webster 1994) mais ces structures ne sont en aucune manière homologues (Wurdack et al. 2005), ce qui suggère trois apparitions d'inflorescences pseudanthiales indépendantes dans la famille.

d'Euphorbieae), plusieurs auteurs considèrent le cyathium comme une innovation clé du genre (Croizat 1937, Webster 1967, Prenner & Rudall 2007).

Le fruit des euphorbes est très majoritairement sous la forme d'une capsule sèche tricoque déhiscente, qui contient le plus souvent trois graines à maturité. Chez certaines espèces l'avortement d'un ou deux ovules aboutit à des capsules biloculaires ou uniloculaires qui portent une ou deux graines. Les caractères liés à la forme, ou l'ornementation des capsules ou du testa des graines ont toujours constitué des caractères classificatoires importants. D'autres caractères, tels que le port des capsules à maturité (dressé ou pendant) ou la présence ou non d'une caroncule (renflement charnu qui entoure le hile des graines) sont variables et facilement observables.

2. Appareil végétatif : morphologie générale, organes végétatifs

Le genre *Euphorbia* est caractérisé par une remarquable diversité morphologique. Sont représentées la presque totalité des formes de vie connues chez les Angiospermes, à l'exception des habitus strictement aquatiques et épiphytes : grands arbres de forêt, arbustes, buissons, herbacées annuelles ou pérennes, plantes géophytes, plantes xéromorphes caractérisées par une extrême diversité au niveau de la nature et de l'importance de la succulence des tiges, des feuilles et du système racinaire (Figure I.3.). Entre les grands groupes morphologiques décrits ci-dessus, on peut observer toute une variété de formes transitoires.

Le système caulinaire des euphorbes présente une extraordinaire diversité comme en témoignent les travaux de Hallé et al. (1978) qui mettent en évidence la présence chez *Euphorbia* de 12 modèles architecturaux (sur les 23 modèles qu'ils reconnaissent), soit une diversité architecturale jamais observée chez aucun autre genre de plantes à fleurs.

Les tiges sont structurellement très variables. Elles présentent toutes les combinaisons possibles entre des tiges fines, peu ou pas succulentes, aux écorces variables (lisses ou à rhytidome plus ou moins exfolié) et des tiges épaisses, fortement succulentes et photosynthétiques, à la manière des Cactaceae (Figures I.3. A à C). Certaines espèces, aux troncs renflés à la base, présentent un port pachycaule à la manière des espèces d'*Adansonia* L. ou de *Pachypodium* Lindl. (Figure I.3. E). La forme de la section transversale des tiges (e.g. section circulaire ou section aplatie) est un caractère variable qui permet de différencier des groupes d'espèces.

Le système racinaire des euphorbes est lui aussi très diversifié : de nombreuses espèces possèdent de simples racines fasciculées non succulentes, mais il existe toute une diversité de racines présentant des renflements d'importance et de forme variables. Dans certains cas l'hypocotyle est renflé formant un caudex souterrain de plus ou moins grande taille.



Figure I.3. Diversité du genre *Euphorbia* L. **A.** *E. cf. antiquorum* L., Vietnam (sous-genre *Euphorbia*) ; **B.** *E. esculenta* Marloth, Afrique du Sud (sous-genre *Rhizanthium*) ; **C.** *E. cf. horrida* Boiss., Afrique du Sud (sous-genre *Rhizanthium*) ; **D.** *E. virgata* Waldst. & Kit., France (sous-genre *Esula*) ; **E.** *E. mandravioky* Leandri, Madagascar (sous-genre *Euphorbia*) ; **F.** *E. hirta* L., Madagascar (sous-genre *Chamaesyce*). **A, B, C** T. Haevermans ; **D, E** X. Aubriot ; **F** G. E. Schatz.

Les feuilles, toujours simples et disposées majoritairement de façon alterne, sont plus ou moins succulentes. De nombreuses espèces possèdent des feuilles très réduites rapidement caduques, ou présentent une aphyllie complète.

La morphologie des stipules, paire d'organes située sur la tige de part-et-d'autre de la base des feuilles (ou de la cicatrice foliaire, le cas échéant), est un des caractères végétatifs les plus distinctifs du genre. Ainsi les euphorbes sont surtout connues pour leurs formes épineuses, tout particulièrement pour les variétés horticoles proches d'*E. milii*⁶ (Madagascar) ou d'*E. ingens* E. Mey. (Afrique de l'Est). La diversité stipulaire du genre *Euphorbia* recouvre en fait un panel morphologique très important : les stipules sont absentes ou réduites à des glandes pour de nombreuses euphorbes (e.g. les espèces du sous-genre *Esula*) ; pour d'autres espèces elles sont sous forme d'épines souples ou rigides, d'importance variable, qui peuvent se ramifier et constituer alors des crêtes épineuses le long des tiges (Figure I.9.). Longtemps considérées comme homologues, les épines des euphorbes strictement malgaches, apparentées à *E. milii* (section *Goniostema* Baill. du sous-genre *Euphorbia*), et celles des euphorbes africaines et asiatiques de la section *Euphorbia* sont en fait des organes différents (voir Boiteau 1947, Uhlarz 1974, Haevermans 2003). Les études développementales d'Uhlarz (1974) ont montré que la vascularisation des épines des euphorbes de la section *Goniostema* en fait de véritables stipules. À contrario, les paires d'épines développées des euphorbes de la section *Euphorbia*, situées juste au dessous de la cicatrice foliaire, ne sont pas vascularisées et correspondraient à des excroissances dérivant de la marge du méristème foliaire.

IV. Le genre *Euphorbia* à Madagascar

Madagascar constitue un des points chauds de la diversité d'*Euphorbia*. Avec près de 170 taxa (taxa infra-spécifiques compris), les euphorbes malgaches représentent environ 10% de la diversité du genre ; toutes les espèces sont endémiques de Madagascar sauf ca. 9 espèces (Tableau I.1.). Présentes dans tous les milieux, dans chaque zone biogéographique de l'île et sur tous les types de substrat, les euphorbes malgaches sont connues pour la remarquable diversité de leurs habitus et de leurs organes reproductifs et végétatifs. Ainsi tous les habitus connus pour le genre *Euphorbia* sont représentés à Madagascar.

La connaissance des euphorbes malgaches souffre du manque de matériel récolté sur le terrain, notamment dans certaines régions de Madagascar (ouest et nord de la Grande Île). Au

⁶ Pour les taxa appartenant à *Euphorbia* sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema*, les noms d'auteurs sont indiqués dans le Tableau I.2.

final, les travaux taxonomiques et phylogénétiques disposant d'un échantillonnage représentatif de la diversité des espèces, ou tout au moins de la totalité des espèces d'un groupe, sont peu nombreux : voir Haevermans 2003, Haevermans 2004, Rebmann 2007, et aussi Rauh 1995, 1998 pour les taxa succulents. Les études sus-citées ont été effectuées sur la base de nombreux travaux taxonomiques antérieurs visant à réviser des groupes d'espèces malgaches définis par leurs caractéristiques morphologiques ou leur distribution. En complément de la monographie de Boissier (1862, 1866), nous pouvons citer les travaux de Denis (1921), de Cremers (1984a,b) ou les nombreuses études de Léandri (1945, 1946, 1947, 1952-1953, 1954 avec Ursch, 1957).

	Espèces	Zone de distribution (hors Madagascar)
Subg. <i>Esula</i>	<i>E. emirmensis</i> Baker <i>E. dracunculoides</i> Lam.	Comores Paléarctique sud, sous-continent Indien
Subg. <i>Chamaesyce</i> , sect. <i>Anisophyllum</i> , subsect. <i>Hypericifoliae</i>	<i>E. hirta</i> L. <i>E. hypericifolia</i> L. <i>E. prostrata</i> Aiton <i>E. thymifolia</i> L.	Cosmopolite Cosmopolite Cosmopolite Cosmopolite
Subg. <i>Euphorbia</i> , sect. <i>Tirucalli</i>	<i>E. tirucalli</i> L. <i>E. analalavensis</i> Leandri <i>E. stenoclada</i> Baill.	Afrique et cultivée dans de nombreux pays tropicaux Comores Île Europa

Tableau I.1. Liste des espèces d'euphorbes malgaches natives, présentes également hors de Madagascar. Le groupe d'appartenance de ces espèces et la zone de distribution (hors Madagascar) sont indiqués.

Nous décrivons ci-dessous l'historique de la classification des euphorbes malgaches. La phylogénie et la systématique des euphorbes malgaches sont détaillées et les caractéristiques morphologiques et écologiques principales de chaque grand groupe d'euphorbe malgache sont fournies.

1. Classification, phylogénie et description des euphorbes malgaches

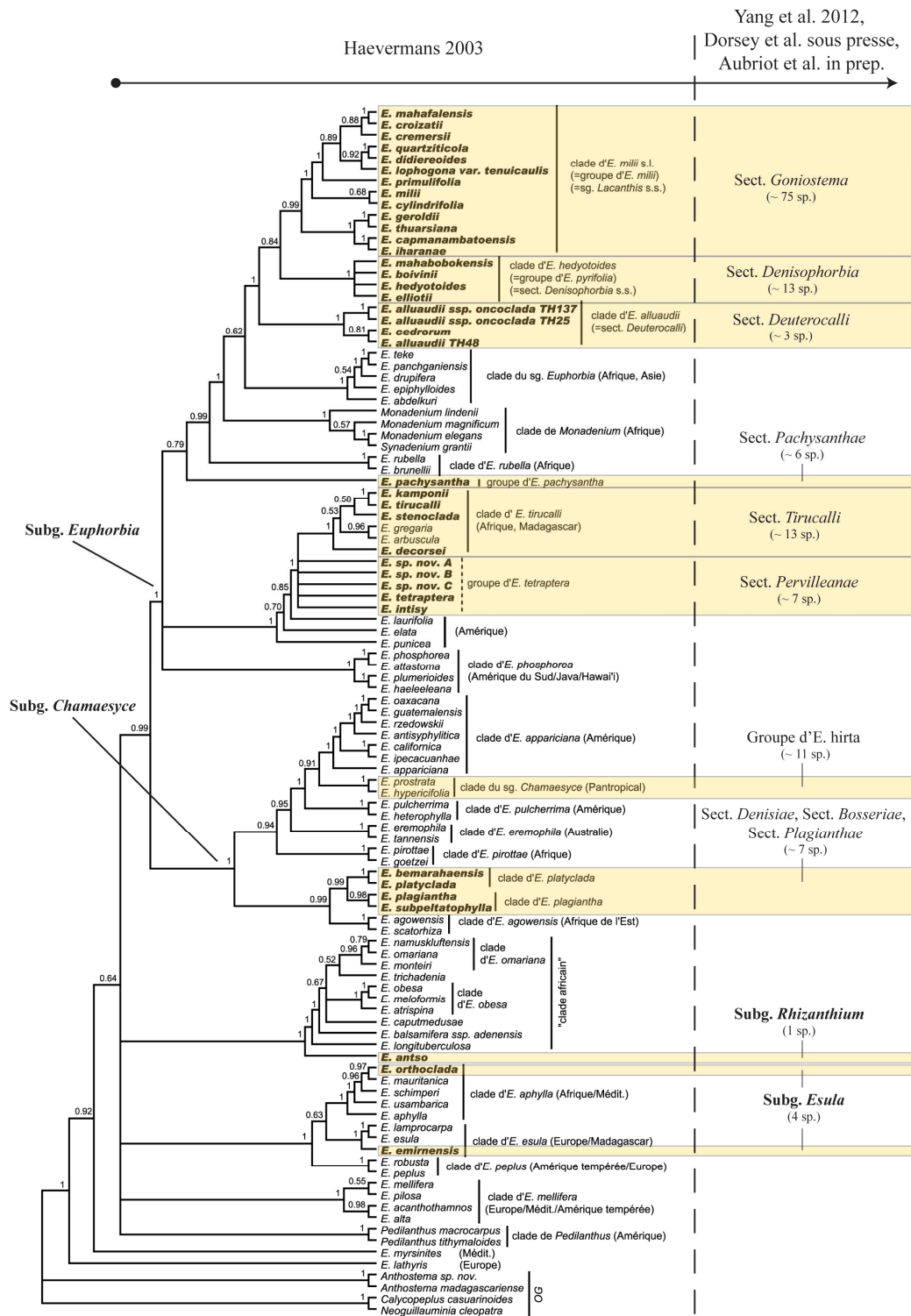
L'histoire de la classification des euphorbes malgaches débute avec Lamarck en 1788, date de la première description d'une euphorbe strictement malgache, *E. lophogona* Lam. Les travaux suivants vont incorporer les espèces nouvellement décrites au sein d'ensembles taxonomiques définis par les caractéristiques morphologiques des espèces ou par la zone géographique occupée, i.e. Madagascar et les îles voisines⁷. Plusieurs descriptions de taxons infra-génériques de différents rangs (sous-genres, sections, sous-sections) et les descriptions de

⁷ Les archipels des Comores, des Seychelles et des Mascareignes, ainsi que les îles éparses de l'océan indien (viz. l'île Europa, Bassas da India, l'île Juan de Nova, l'île Grande Glorieuse, l'île du Lys, et l'île Tromelin).

trois genres distincts du genre *Euphorbia* ont été basées sur des euphorbes malgaches. On peut ainsi citer les genres *Lacanthis* Raf. [type : *L. splendens* (= *E. milii*)], *Tumalis* Raf. [type : *T. bojeri* (= *E. milii*)] et *Sterigmanthe* Klotzsch & Garck [type : *S. splendens* (= *E. milii*)], ainsi que *Euphorbia* section *Goniostema* Baill. (lectotype : *E. lophogona*), *E.* sect. *Diacanthium* Boiss. [lectotype : *E. splendens* (= *E. milii*)] ou encore *E.* sous-section *Denisophorbia* Leandri (type : *E. pyrifolia*). Au cours de l'histoire, ces groupes taxonomiques ont vu leurs rangs varier dans la classification selon l'auteur : e.g. de genre à sous-genre pour *Lacanthis* (Gilbert 1987) et de sections à sous-sections pour *Goniostema* et *Diacanthium* (Bentham & Hooker 1880). Le sous-genre *Lacanthis* et la sect. *Diacanthium*, tous deux décrits dans l'objectif de rassembler les espèces proches d'*E. splendens* (= *E. milii*), ont rassemblé, au fur et à mesure des révisions, des espèces malgaches mais aussi africaines placées aujourd'hui dans les sous-genres *Euphorbia* et *Rhizanthium*. Dans certains cas les espèces malgaches ont été incorporées à des groupes décrits à partir de type non-malgaches. C'est le cas des espèces « coralliformes » apparentées à *E. tirucalli* L. qui ont été assignées à la sect. *Tirucalli*, ou des espèces géophytes incorporées au sous-genre *Rhizanthium* (e.g. *E. primulifolia*, *E. moratii*, et *E. quartziticola*). Les tentatives pour homogénéiser la systématique d'*Euphorbia* et produire un système classificatoire basé sur la morphologie satisfaisant ont toutes échouées (voir Wheeler 1943, Croizat 1972, Gilbert 1987) et la circonscription des groupes incorporant les euphorbes malgaches est donc restée douteuse.

Il a fallu attendre les analyses phylogénétiques récentes pour confirmer ces doutes et constater la polyphylie de tous les groupes infra-génériques précédemment cités (Steinmann & Porter 2002, Haevermans 2003, Haevermans 2004, Bruyns et al. 2006, Zimmermann et al. 2010, Horn et al. 2012, Dorsey et al. sous presse). L'ensemble des caractères morphologiques utilisés pour regrouper les espèces se sont révélés inadaptés à illustrer leur histoire évolutive. Il est en outre apparu que le concept d'euphorbes malgaches comme groupe « naturel » ne reflète pas la réalité, et que les membres du genre présents à Madagascar ne sont pas tous directement apparentés ; la présence d'*Euphorbia* à Madagascar serait due à plusieurs évènements de dispersion vers l'île. Les euphorbes malgaches se retrouvent ainsi dans les quatre grands sous-genres du genre *Euphorbia* s.lat. où elles forment à chaque fois des groupes monophylétiques (à l'exception des sections *Tirucalli* et *Denisophorbia* qui regroupent aussi, respectivement, des espèces africaines et des îles voisines de Madagascar). Les euphorbes malgaches sont exceptionnellement diversifiées au sein du sous-genre *Euphorbia*, et plus particulièrement dans la section *Goniostema* (ca. 75 sp.) (Figure I.4.).

À partir des travaux phylogénétiques, des auteurs ont circonscrit de façon informelle puis formelle des groupes infra-génériques définis sur la base de la monophylie et de la présence de caractères morphologiques distincts (Haevermans 2003, Yang et al. 2012, Dorsey et al. sous presse). Nous allons donner ci-dessous une brève description de chacun des clades qui regroupent des euphorbes malgaches.



← **Figure I.4.** Arbre résumant le positionnement des espèces d'euphorbes malgaches au sein de la phylogénie du genre *Euphorbia* (espèces surlignées en jaune), suivant les résultats obtenus par Haevermans (2003). Les valeurs de soutien statistique sont fournies aux nœuds. Les résultats des études taxonomiques récentes des sous-genres *Chamaesyce* et *Euphorbia* (Yang et al. 2012, Dorsey et al. sous presse) sont mis en parallèle des résultats d'Haevermans (2003), en faisant correspondre notamment les différentes nomenclatures utilisées pour chaque groupe d'euphorbes malgaches (tous ces groupes sont monophylétiques à l'exception du « subg. *Esula* » qui représente des espèces non-intimement apparentées). Les estimations du nombre d'espèces malgaches de chaque groupe sont données entre parenthèses.

2. Description des grands clades d'euphorbes malgaches

La position phylogénétique de chaque clade d'euphorbe malgache est présentée Figure I.4., qui est une topologie issue des travaux d'Haevermans (2003). Les correspondances entre les concepts infra-génériques informels d'Haevermans (2003) et ceux formels décrits par Yang et al. (2012) et Dorsey et al. (sous presse) y sont figurées. Cet arbre phylogénétique sert de fil conducteur aux descriptions de chaque clade. Les nouvelles circoncriptions publiées par Yang et al. (2012) et Dorsey et al. (sous presse) nous serviront de travaux taxonomiques de référence. Nous allons donner ci-dessous une description synthétique des euphorbes malgaches, sous-genres par sous-genres, sections par sections, en partant des clades ayant divergés en premiers.

- Le sous-genre *Esula* (clade B fide Steinmann & Porter 2002) :

Ce sous-genre regroupe trois espèces strictement malgaches et comoriennes (*E. emirnensis* Baker, *E. ensifolia* Baker et *E. orthoclada* Baker) et une espèce pantropicale également présente à Madagascar (*E. dracunculoides* Lam.). Il s'agit de plantes herbacées, annuelles et dressées (*E. emirnensis*, *E. ensifolia* et *E. dracunculoides*) ou persistantes, qui peuvent être buissonnantes (*E. orthoclada* var. *orthoclada*) ou lianescentes [*E. orthoclada* var. *vepretorum* (Drake) Leandri] (Figures I.5. B, C et F). Ces espèces présentent toutes l'inflorescence caractéristique du sous-genre *Esula*, i.e. une pseudo-ombelle terminale portant des cyathia bisexués (espèces monoïques). Les stipules sont absentes, les capsules sont tricoques et les trois graines qu'elles contiennent sont caronculées. *Euphorbia orthoclada* se singularise des autres membres du sous-genre par ses tiges fortement succulentes et son port lianescent unique chez les euphorbes malgaches (pour la variété *E. orthoclada* var. *vepretorum*).

Les trois espèces endémiques de Madagascar et des Comores occupent à Madagascar les massifs montagneux des hauts plateaux centraux, ainsi que la région sud de l'île pour *E. orthoclada*.

Les travaux phylogénétiques d'Haevermans (2003), les premiers à inclure des espèces malgaches du sous-genre *Esula* dans un cadre phylogénétique (viz. *E. emirnensis* et *E. orthoclada*), ont montré que ces taxa appartiennent à des clades différents et ne sont pas

directement apparentés (Figure I.4.). Barres et al. (2011) ont précisé la position phylogénétique d'*E. orthoclada* : cette espèce serait proche parente des espèces d'Afrique du Sud *E. mauritanica* L. et *E. stolonifera* Marloth, ce qui les a amené à suggérer un événement de dispersion à longue distance depuis l'Afrique du Sud vers Madagascar.

- **Le sous-genre *Rhizanthium* (clade A fide Steinmann & Porter 2002) :**

Le sous-genre *Rhizanthium* est, avec une seule espèce malgache (*E. antso* Denis), le groupe d'euphorbes le moins représenté à Madagascar. Cette espèce est, du fait de sa morphologie générale (Figure I.5. G) et de sa distribution géographique (endémique de Madagascar), une espèce singulière au sein du sous-genre *Rhizanthium*. Il s'agit d'un arbuste monoïque à tronc succulent qui présente une structure inflorescentielle originale pour le sous-genre, similaire aux pseudo-ombelles des espèces du sous-genre *Esula*. Les stipules sont réduites à des glandes et les capsules sont de grande taille et verruqueuses. Les graines, enfin, non caronculées, sont au nombre de 1 (ou 2).

Cette espèce n'est présente que dans certaines localités du sud-ouest de l'île.

Toutes les études phylogénétiques qui mettent en jeu un échantillonnage représentatif du sous-genre *Rhizanthium* ont montré qu'*E. antso* est l'espèce basale du sous-genre (Steinmann & Porter 2002, Bruyns et al. 2006, Zimmermann et al. 2010, Bruyns et al. 2011, Horn et al. 2012). La position phylogénétique et les principales caractéristiques morphologiques de cette espèce (plésiomorphes pour le sous-genre selon Horn et al. 2012) en font une candidate idéale pour représenter les caractères morphologiques ancestraux du sous-genre *Rhizanthium* (Horn et al. 2012, Bruyns et al. 2006), voire, comme le suggèrent Steinmann & Porter (2002), du genre *Euphorbia*.

- **Le sous-genre *Chamaesyce* (clade D fide Steinmann & Porter 2002) :**

Avec environ 13 espèces endémiques de la Grande Île (et 5 espèces cosmopolites également présentes à Madagascar), le sous-genre *Chamaesyce* est, après le sous-genre *Euphorbia*, le second sous-genre d'euphorbes le plus représenté à Madagascar (Haeevermans 2003, Yang et al. 2012). On peut séparer les espèces d'euphorbes malgaches du sous-genre *Chamaesyce* en deux groupes non intimement apparentés.



Figure I.5. Diversité des sous-genres *Esula*, *Rhizanthium* et *Chamaesyce* à Madagascar **A.** cyathium d'*E. salota* (sous-genre *Chamaesyce*) ; **B.** cyathia d'*E. orthoclada* (sous-genre *Esula*) ; **C.** *E. emirnensis* (sous-genre *Esula*) ; **D.** *E. salota* (sous-genre *Chamaesyce*) ; **E.** cyathium d'*E. denisii* (sous-genre *Chamaesyce*) ; **F.** *E. orthoclada* (sous-genre *Esula*) ; **G.** *E. antso* (sous-genre *Rhizanthium*) ; **H.** *E. plagiantha* (sous-genre *Chamaesyce*) **A, B, C, G** T. Haevermans ; **D, E, F, H** X. Aubriot.

○ **Le groupe d'*E. hirta* (fide Haevermans 2003) :**

Selon le seul traitement taxonomique de ces espèces (Leandri 1947), le groupe d'*E. hirta* rassemble 6 espèces endémiques de Madagascar⁸ (*E. hildebrandtii* Baill., *E. humbertii* Denis, *E. grandidieri* Baill., *E. trichophylla* Baker, *E. pellegrinii* Leandri et *E. vezorum* Leandri) et 5 espèces polydémiques (*E. glaucophylla* Poir., *E. hirta* L., *E. hypericifolia* L., *E. prostrata* Aiton et *E. thymifolia* L.). Ce sont des herbacées qui sont généralement prostrées et qui sont caractérisées par l'avortement du bourgeon terminal, une phyllotaxie opposée (ou sub-opposée) et des graines non-caronculées.

Du point de vue de leur distribution, les espèces endémiques sont très localisées alors que les espèces pantropicales ou cosmopolites, qui s'épanouissent dans les milieux perturbés par l'être humain, sont très courantes.

En l'absence de matériel utilisable pour les études moléculaires, les espèces endémiques de Madagascar n'ont jamais été incluses dans une étude phylogénétique. D'après leurs caractéristiques morphologiques, il est néanmoins possible d'inclure ces espèces dans le même groupe infra-générique que celui où se situent les espèces pantropicales, i.e. la sous-section *Hypericifoliae* Boiss. (section *Anisophyllum* Roep. du sous-genre *Chamaesyce*, ex genre *Chamaesyce*) (voir Yang et al. 2012).

○ **Les sections *Denisiae*, *Bosseriae* et *Plagianthae* (fide Yang et al. 2012) :**

Ces trois sections fortement apparentées regroupent ca. 7 espèces endémiques de Madagascar (Yang et al. 2012) qui présentent une morphologie générale très variée (Figures I.5. A, D, E et H) : certaines espèces arbustives sont non-succulentes et possèdent un rhizome de grande taille (section *Denisiae* T. Haevermans & X. Aubriot : *E. denisii* Oudejans, *E. subpeltatophylla* Rauh), d'autres correspondent à des herbacées de petite taille à tiges très succulentes (section *Bosseriae* T. Haevermans & X. Aubriot : *E. bemarahaensis* Rauh & R. Mangelsdorff, *E. bosseri* Leandri et *E. platyclada* Rauh), d'autres enfin sont des arbustes semblables à des genêts (section *Plagianthae* T. Haevermans & X. Aubriot : *E. salota*) ou des arbres présentant une écorce luisante et fortement desquamante (section *Plagianthae* : *E. plagiantha*). Nous ne détaillerons pas plus ici la morphologie générale des espèces de ces sections étant donné qu'elle est présentée et discutée dans le travail de Yang et al. 2012.

⁸ Décrite par Léandri (1947) comme une euphorbe de la sect. *Anisophyllum* endémique de Madagascar, *Euphorbia benoistii* n'appartient pas au genre *Euphorbia* mais correspond en réalité à l'espèce *Capuronia madagascariensis* Lourteig (Lythraceae) (Berry & Phillipson 2011).

Ces espèces sont présentes dans le sud de l'île de Madagascar depuis la zone sud des hauts plateaux jusqu'à la côte.

Les études phylogénétiques récentes (Yang et al. 2012, Horn et al. 2012) ont montré que le clade malgache formé par ces trois sections fait partie, au sein de sous-genre *Chamaesyce*, du grand « grade de l'Ancien Monde » mais sa position phylogénétique précise est sujette à caution. Les travaux de Yang et al. (2012) le placent en groupe frère de la section *Frondosae* Bruyns (7 espèces herbacées ou arbustives plus ou moins succulentes de l'est et du sud-est de l'Afrique) tandis que ceux de Horn et al. (2012) le positionnent en plus proche parent de la section *Scatorhizae* Y. Yang & P. E. Berry (7 espèces herbacées ou arbustives, non succulentes, à écorces fortement desquamantes, que l'on retrouve en Afrique de l'Est, dans la péninsule Arabique et en Inde). C'est cette deuxième hypothèse qui est aujourd'hui privilégiée (voir Yang et al. 2012 pour la discussion).

- **Le sous-genre *Euphorbia* (clade C fide Steinmann & Porter 2002) :**

De tous les sous-genres, c'est le sous-genre *Euphorbia* qui est le plus diversifié à Madagascar. Il compte pour ca. 117 espèces (148 taxa si l'on prend en compte les entités infra-spécifiques), soit plus de 85% de la diversité des euphorbes malgaches (taxa infra-spécifiques compris). On y retrouve tous les types de formes de vies référencées pour les euphorbes malgaches (à l'exception des formes herbacées et lianescentes des espèces du sous-genre *Esula*). Si les euphorbes malgaches des trois autres sous-genres sont cantonnées à des zones géographiques restreintes (à l'exception des espèces pantropicales), on retrouve les membres du sous-genre *Euphorbia* dans tout Madagascar, dans tous les types de milieux écologiques, certaines espèces présentant des zones de distribution très étendues (e.g. *E. tirucalli*, *E. alluaudii*). Le traitement taxonomique le plus récent du sous-genre *Euphorbia*, basé sur un travail phylogénétique disposant d'un échantillonnage taxonomique représentatif (Dorsey et al. sous presse), scinde le sous-genre *Euphorbia* en de multiples sections dont six qui contiennent des euphorbes malgaches : les sections *Tirucalli* Boiss., *Pervilleanae* X. Aubriot & T. Haevermans, *Pachysanthae* X. Aubriot & T. Haevermans, *Deuterocalli* Croizat, *Denisophorbia* (Leandri) Croizat et *Goniostema* Baill. Les résultats phylogénétiques précisent le positionnement phylogénétique de ces sections au sein de trois clades statistiquement soutenus qui regroupent pour l'un les sections *Tirucalli* et *Pervilleanae*, pour l'autre l'unique section *Pachysanthae* et pour le dernier les trois sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema* (Figure I.4.). Si le clade formé par les sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema* n'est indubitablement pas apparenté aux autres clades d'euphorbes malgaches,

les positionnements phylogénétiques relatifs du clade *Tirucalli/Pervilleanae* d'une part et *Pachysanthae* d'autre part sont sujets à caution. Ces résultats suggèrent au minimum deux évènements distincts de dispersion des espèces du sous-genre *Euphorbia* depuis l'Afrique vers Madagascar (voir Dorsey et al. sous presse).

Nous allons présenter les sections malgaches du sous-genre *Euphorbia* en traitant les clades les uns après les autres, du bas de l'arbre vers le haut (Figure I.4.).

○ **Les sections *Tirucalli* et *Pervilleanae* (fide Dorsey et al. sous presse) :**

Ces deux sections, intimement apparentées, regroupent respectivement environ 13 et 7 espèces présentes à Madagascar et dans les îles environnantes (Havermans 2003, Horn et al. 2012, Dorsey et al. sous presse). Si la section *Pervilleanae* est uniquement malgache, la section *Tirucalli* regroupe aussi des espèces d'euphorbes d'Afrique, de la péninsule Arabique et de l'Inde (au total ca. 25 espèces). Le positionnement phylogénétique de ce clade est problématique en raison des incongruences topologiques entre les phylogénies nucléaires et chloroplastiques (voir Dorsey et al. sous presse).

▪ **La section *Tirucalli* (fide Dorsey et al. sous presse) :**

Les 13 espèces malgaches de la sect. *Tirucalli* [*E. alcicornis* Baker, *E. analalavensis* Leandri, *E. arahaka* Poiss., *E. boinensis* Denis ex Humbert & Leandri, *E. decorsei* Drake, *E. enterophora* Drake, *E. fiherenensis* Poiss., *E. imerina* Cremers, *E. kamponii* Rauh & Petignat, *E. mainty* (Poiss.) Denis ex Leandri, *E. ramofraga* Denis & Humbert ex Leandri, *E. stenoclada* Baill., *E. tirucalli* L.] présentent une morphologie générale homogène (Figures I.6. C et D) : il s'agit d'arbustes ou d'arbres dioïques présentant des tiges photosynthétiques très succulentes et des feuilles de petite taille rapidement caduques. Les stipules sont glandulaires et les épines observées chez *E. stenoclada* sont des prolongements épineux des rameaux. Ces caractéristiques morphologiques singulières ont valu à ces espèces l'appellation d' « espèces coralliformes ». Souvent pubescentes, les capsules sont tricoques et contiennent à maturité des graines caronculées.

Les espèces malgaches de cette section se retrouvent du nord de Madagascar, dans les environs de Diego Suarez (e.g. *E. analalavensis*), à l'extrême sud de l'île (e.g. *E. kamponii*, *E. decorsei*), en passant par les hauts plateaux malgaches (e.g. *E. stenoclada*, *E. enterophora*). Les espèces *E. analavensis* et *E. stenoclada* sont respectivement présentes à l'état spontané sur l'archipel des Comores (i.e. Comores et Mayotte) et l'île Europa. *Euphorbia tirucalli* est l'espèce la plus largement repandue avec de larges populations africaines et asiatiques.

Traditionnellement, ces espèces ont été placées, avec toutes les autres espèces d'euphorbes coralliformes du monde au sein de la sect. *Tirucalli* (e.g. Boissier 1862, Hassal 1977). Les études phylogénétiques ont toutes montré la polyphylie d'un tel regroupement et ont suggéré que le port coralliforme est un caractère convergent au sein du genre *Euphorbia* (Steinmann & Porter 2002, Bruyns et al. 2006, Barres et al. 2011, Horn et al. 2012, Yang et al. 2012, Dorsey et al. sous presse). Très récemment, la sect. *Tirucalli* a été re-circonscrite par Dorsey et al. (sous presse) selon le critère de monophylie, afin de n'intégrer qu'une partie des espèces coralliformes du sous-genre *Euphorbia* de l'Ancien Monde (soit ca. 25 espèces). La taxonomie de cette section reste hélas globalement confuse ce qui est en grande partie lié à l'absence de caractères diagnostiques facilement observables sur le terrain et à la quasi-impossibilité d'arriver à une identification morphologique fiable avec des exsiccata.

▪ **La section *Pervilleanae* (fide Dorsey et al. sous presse) :**

La sect. *Pervilleanae* est un clade qui rassemble environ 7 espèces strictement malgaches : *E. adenopoda* Baillon, *E. analamerae* Leandri, *E. intisy* Drake, *E. pervilleana* Baillon, *E. randrianjohanyi* Haevermans & Labat, *E. rauhii* Haevermans & Labat, *E. tetraptera* Baker. Ce sont des plantes généralement dioïques, arbustives ou arborescentes, non succulentes, présentant des feuilles développées souvent de grande taille (exceptée pour *E. intisy* qui se reconnaît par ses feuilles réduites à des écailles) et des stipules glandulaires. Toutes les espèces sont caractérisées par leurs capsules biloculaires ornementées d'excroissances diverses (des ailes chez *E. tetraptera*, des épines chez *E. pervilleana*, *E. randrianjohanyi*, *E. rauhii*) et qui contiennent des graines de grande taille, non-caronculées (Figures I.6. B, F et G).

Présentes partout à Madagascar, elles se retrouvent majoritairement dans les régions humides (notamment les zones de forêt tropicales humides de l'est de l'île).

Autrefois regroupées incorrectement avec les espèces de la sous-section *Denisophoria* (et de la sect. *Tirucalli* pour *E. intisy*), les espèces de la sect. *Pervilleanae* forment avec les espèces de la sect. *Tirucalli* un clade bien soutenu (Dorsey et al. sous presse). Les espèces de la section apparentées à *E. pervilleana* ont fait l'objet d'une révision récente (Haevermans & Labat 2004) mais les circonscriptions taxonomiques d'*E. adenopoda* et d'*E. tetraptera* ne sont pas claires et plusieurs espèces nouvelles potentielles sont connues pour cette section (Haevermans & Aubriot, données non publiées).



Figure I.6. Diversité des sections *Tirucalli*, *Pervilleanae* et *Pachysanthae* à Madagascar **A.** fruits et graine d'*E. mananarensis* (section *Pachysanthae*) ; **B.** cyathia d'*E. sp.* (section *Pervilleanae*) ; **C.** *E. stenoclada* (section *Tirucalli*) ; **D.** cyathia d'*E. enterophora* (section *Tirucalli*) ; **E.** *E. mandravioky* (section *Pachysanthae*) ; **F.** *E. sp.* (section *Pervilleanae*) ; **G.** *E. randrianjohanyi* (section *Pervilleanae*). **A, D** T. Haevermans ; **C, G** X. Aubriot ; **B** E. Bidault ; **E, F** L. Gautier.

○ **La section *Pachysanthae* (fide Dorsey et al. sous presse) :**

Cette section, de petite taille et endémique de Madagascar, regroupe environ 6 espèces dont quatre déjà décrites (*E. mananarensis* Leandri, *E. mandravioky* Leandri, *E. pachysantha* Baill., *E. pirahazo* Jum.) et deux espèces nouvelles pour la science, en cours de description (*E. haevermansii* et *E. nusbaumerii* — Aubriot et al. in prep.). Les membres de cette section se distinguent des autres euphorbes malgaches par leur port d'arbres en bouteilles (à la manière d'*Adansonia*) et leurs tiges parfois fortement succulentes (Figure I.6. E). Les feuilles sont développées, parfois de grande taille (e.g. *E. mandravioky*) et les stipules glandulaires. Les capsules sont très variables, triloculaires à uniloculaires par avortement et les graines qu'elles contiennent sont de grande taille et ne présentent pas de caroncules (Figure I.6. A).

Ces espèces se retrouvent de façon très localisée dans des environnements variés : dans le bush semi-aride des environs de Fort-Dauphin (*E. mananarensis*), dans les formations karstiques des environs de Diego Suarez (*E. mandravioky*), dans les restes de forêts sèches de l'Ouest (*E. pirahazo*) ou de forêts tropicales humides de l'Est (*E. pachysantha*, *E. haevermansii* et *E. nusbaumerii*).

La position phylogénétique de ce clade est sujette à caution, notamment en raison d'un déficit d'échantillonnage (voir Steinmann & Porter 2002, Haevermans 2003, Horn et al. 2012 et Dorsey et al. sous presse). En se basant sur la morphologie des capsules et sur les topologies issues de données chloroplastiques, Dorsey et al. (sous presse) suggèrent une proche parenté de cette section avec le sect. *Pervilleanae*, mais rien ne permet à l'heure actuelle d'apporter un soutien fort à cette hypothèse. La taxonomie de cette section énigmatique est révisée dans la présente étude et dans un article à venir (Aubriot et al. in prep.).

○ **Les sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema* (fide Dorsey et al. sous presse) :**

À elles seules, ces trois sections étroitement apparentées et endémiques de Madagascar (et des îles alentours pour la sect. *Denisophorbia*), regroupent environ 91 espèces (123 taxa en comptant les taxa infra-spécifiques) soit ca. 70% de la diversité des euphorbes malgaches (fide Haevermans et al. 2009⁹, Dorsey et al. sous presse). La diversité spécifique des euphorbes de ces sections par rapport à celle des autres groupes malgaches s'accompagne d'une variabilité morphologique et écologique impressionnante : toutes les formes de vie du

⁹ Article en annexe (Annexe I.3.)

sous-genre *Euphorbia* y sont représentées et tous les milieux écologiques de Madagascar sont occupés par les espèces de ces trois sections. Les espèces de ce clade, que nous appellerons par la suite « clade GDD », se distinguent des autres euphorbes malgaches par l'impressionnante diversité morphologique de leurs stipules et de leurs cyathophylles.

Toutes les études phylogénétiques ont montré une proche parenté entre ce clade et les espèces africaines des sections *Euphorbia*, *Monadenium* et *Rubellae* (sensu Dorsey et al. sous presse) (Steinmann & Porter 2002, Haevermans 2003, Bruyns et al. 2006, Zimmermann et al. 2010, Horn et al. 2012, Dorsey et al. sous presse). Néanmoins, les relations de parenté au sein du clade GDD et notamment la monophylie des sections *Denisophorbia* et *Goniostema* sont controversées (voir Dorsey et al. sous presse et Chapitre 5). La liste des espèces de chacune des sections est fournie (Tableau I.2.).

▪ **La section *Deuterocalli* (fide Dorsey et al. sous presse) :**

La sect. *Deuterocalli* regroupe 3 espèces arborescentes dioïques caractérisées par des branches chlorophylliennes très succulentes, en forme de pinceau ; au niveau architectural, ces espèces suivent le modèle de Rauh (Cremers 1977) (Figure I.7. E). Celles-ci portent des feuilles réduites à des écailles qui sont rapidement caduques. À la base des insertions foliaires, les stipules ont la particularité de former des anneaux glandulaires qui entourent entièrement la cicatrice foliaire. Les capsules sont tricoques et contiennent trois graines sans caroncules (Figure I.7. A).

Les espèces de la sect. *Deuterocalli* ont une distribution strictement malgache ; elles occupent des zones géographiques très restreintes (e.g. une seule population connue pour *E. cedrorum* dans les environs de Tuléar) ou au contraire très larges (e.g. *E. alluaudii* présente de l'extrême nord à l'extrême sud de l'île).

Les espèces de cette section avaient été incorrectement groupées avec *E. tirucalli* et l'ensemble des euphorbes dites « coralliformes » en raison des caractéristiques morphologiques qui les rapprochent (aphyllie, dioïcie et tiges photosynthétiques en forme de pinceau) (Steinmann & Porter 2002, Haevermans 2003, Dorsey et al. sous presse). Ces espèces diffèrent cependant de celles de la sect. *Tirucalli* par leur port général, l'importance de la succulence des tiges, la morphologie des stipules et surtout par la présence de graines dépourvues de caroncules. D'un point de vue taxonomique, une des trois espèces présente une circonscription morphologique particulièrement vague (*E. famatamboay*) et il n'est pas possible de la déterminer sans ambiguïté. En outre, les résultats obtenus par Haevermans et al. (2004) suggèrent une possible paraphylie d'*E. alluaudii*.

Sect. *Deuterocalli*

Euphorbia alluaudii Drake
Euphorbia cedrorum Rauh & Hebding
Euphorbia famatamboay F. Friedmann & Cremers

Sect.
Denisophorbia

Euphorbia ankaranae Leandri
Euphorbia aprica Baill.
Euphorbia boivini Boiss.
Euphorbia bongolavensis Rauh
Euphorbia elliotii Leandri
Euphorbia hedyotoides N. Br.
Euphorbia mahabobokensis Rauh
Euphorbia mangorensis Leandri
Euphorbia martinae Rauh
Euphorbia physoclada Boissier
Euphorbia pyrifolia Lam.
Euphorbia rangovalensis Leandri
Euphorbia zakamena Leandri

Sect. *Gonistema*

Euphorbia alfredii Rauh
Euphorbia ambarivatoensis Rauh & Bard.-Vauc.
Euphorbia ambovombensis Rauh & Razaf.
Euphorbia analavelonensis Rauh & Mangelsdorff
Euphorbia ankarensis Boiteau
Euphorbia ankazobensis Rauh & Hofstätter
Euphorbia annamariae Rauh
Euphorbia banae Rauh
Euphorbia beharensis Leandri var. *beharensis*
Euphorbia berevoensis Lawant & Buddens.
Euphorbia berorohae Rauh & Hofstätter
Euphorbia biaculeata Denis
Euphorbia boissieri Baill.
Euphorbia boiteaui Leandri
Euphorbia brachyphylla Denis
Euphorbia bulbispina Rauh & Razaf.
Euphorbia capmanambatoensis Rauh
Euphorbia capsaintemariensis Rauh
Euphorbia capuronii Ursch & Leandri
Euphorbia caput-aureum Denis
Euphorbia cremersii Rauh & Razaf. var. *cremersii*
Euphorbia croizatii Leandri
Euphorbia cylindrifolia Marn.-Lap. & Rauh subsp. *cylindrifolia*
Euphorbia decaryi Guillaumin var. *decaryi*
Euphorbia delphinensis Ursch & Leandri
Euphorbia denisiana Guillaumin
Euphorbia didiereoides Denis ex Leandri
Euphorbia duranii Ursch & Leandri var. *duranii*
Euphorbia erythroculata Mangelsdorff
Euphorbia fianarantsoae Ursch & Leandri
Euphorbia francoisii Leandri var. *francoisii*
Euphorbia genoudiana Ursch & Leandri
Euphorbia geroldii Rauh
Euphorbia gottlebei Rauh
Euphorbia guillauminiana Boiteau
Euphorbia hermanschwartzii Rauh
Euphorbia hexadenia Denis
Euphorbia hofstaetteri Rauh
Euphorbia horombensis Ursch & Leandri
Euphorbia iharanae Rauh
Euphorbia isalensis Leandri
Euphorbia itremensis Kimmach & Lavranos
Euphorbia kondoi Rauh & Razaf.
Euphorbia labatii Rauh & Bard.-Vauc.
Euphorbia leuconeura Boiss.
Euphorbia lophogona Lam. var. *lophogona*
Euphorbia mahafalensis Denis var. *mahafalensis*
Euphorbia mainiana Poiss.
Euphorbia mangelsdorffii Rauh

	<i>Euphorbia mangokyensis</i> Denis
	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul. var. <i>milii</i>
	<i>Euphorbia millotii</i> Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia moratii</i> Rauh var. <i>moratii</i>
	<i>Euphorbia neobosseri</i> (Rauh) Rauh var. <i>neobosseri</i>
	<i>Euphorbia neohumbertii</i> Boiteau var. <i>neohumbertii</i>
	<i>Euphorbia pachypodioides</i> Boiteau
	<i>Euphorbia parvicyathophora</i> Rauh
	<i>Euphorbia paulianii</i> Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia pedilanthoides</i> Denis
	<i>Euphorbia perrieri</i> Drake var. <i>perrieri</i>
	<i>Euphorbia primulifolia</i> Baker var. <i>primulifolia</i>
	<i>Euphorbia quartziticola</i> Leandri
	<i>Euphorbia razafindratsirae</i> Lavranos
	<i>Euphorbia razafinjohanyi</i> Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia retrospina</i> Rauh & Gerold
	<i>Euphorbia robivelonae</i> Rauh
	<i>Euphorbia rossii</i> Rauh & Buchloh
	<i>Euphorbia sakarahaensis</i> Rauh
	<i>Euphorbia suzannae-marnierae</i> Rauh & Pétignat
	<i>Euphorbia tardieuana</i> Leandri
	<i>Euphorbia thuarsiana</i> Baill.
	<i>Euphorbia tsimbazazae</i> Leandri
	<i>Euphorbia tulearensis</i> (Rauh) Rauh
	<i>Euphorbia viguieri</i> Denis var. <i>viguieri</i>
	<i>Euphorbia waringiae</i> Rauh & Gerold
	<hr/>
	<i>Euphorbia beharensis</i> Leandri var. <i>adpressifolia</i> Rauh
	<i>Euphorbia beharensis</i> Leandri var. <i>guillemetii</i> (Ursch & Leandri) Rauh
	<i>Euphorbia beharensis</i> Leandri var. <i>squarrosa</i> Rauh
	<i>Euphorbia beharensis</i> Leandri var. <i>truncata</i> Rauh
	<i>Euphorbia cremersii</i> Rauh & Razaf. forma <i>viridiflora</i> Rauh
	<i>Euphorbia cremersii</i> Rauh & Razaf. var. <i>rakotozafyi</i> (Cremers) Rauh
	<i>Euphorbia cylindrifolia</i> Marn.-Lap. & Rauh subsp. <i>tuberifera</i> Rauh
	<i>Euphorbia decaryi</i> Guillaumin var. <i>ampanihyensis</i> Cremers
	<i>Euphorbia decaryi</i> Guillaumin var. <i>robinsonii</i> Cremers
	<i>Euphorbia decaryi</i> Guillaumin var. <i>spirosticha</i> Rauh & Buchloh
	<i>Euphorbia duranii</i> Ursch & Leandri var. <i>ankaratrae</i> Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia francoisii</i> Leandri var. <i>crassicaulis</i> Rauh
	<i>Euphorbia lophogona</i> Lam. var. <i>tenuicaulis</i> Rauh
	<i>Euphorbia mahafalensis</i> Denis var. <i>xanthadenia</i> (Denis) Leandri
	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul. var. <i>bevilaniensis</i> (Croizat) Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul. var. <i>hislopii</i> (N.E.Br.) Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul. var. <i>longifolia</i> Rauh
	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul. var. <i>roseana</i> Marn.-Lap. ex Demoly
	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul. var. <i>splendens</i> (Bojer ex Hook.) Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul. var. <i>tenuispina</i> Rauh & Razaf.
	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul. var. <i>tulearensis</i> Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia moratii</i> Rauh var. <i>antsingiensis</i> Cremers
	<i>Euphorbia moratii</i> Rauh var. <i>bemaraensis</i> Cremers
	<i>Euphorbia moratii</i> Rauh var. <i>multiflora</i> Rauh
	<i>Euphorbia neobosseri</i> (Rauh) Rauh var. <i>itampolensis</i> Rauh
	<i>Euphorbia neohumbertii</i> Boiteau var. <i>aureoviridiflora</i> Rauh
	<i>Euphorbia perrieri</i> Drake var. <i>elongata</i> Denis
	<i>Euphorbia primulifolia</i> Baker var. <i>begardii</i> Cremers
	<i>Euphorbia viguieri</i> Denis var. <i>ankarafantsiensis</i> Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia viguieri</i> Denis var. <i>capuroniana</i> Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia viguieri</i> Denis var. <i>tsimbazazae</i> Ursch & Leandri
	<i>Euphorbia viguieri</i> Denis var. <i>vilanandrensis</i> Ursch & Leandri
	<hr/>
Taxa infra-spécifiques de la sect. <i>Goniostema</i>	

Tableau I.2. Tableau récapitulatif des espèces appartenant aux sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema* du clade GDD. La liste d'espèces présentée ci-dessus suit les résultats nomenclauraux d'Haevermans et al. (2009), à l'exception d'*E. capsaintemariensis* qui est traitée comme une espèce plutôt que comme une variété d'*E. decaryi* et d'*E. neohumbertii* var. *aureoviridiflora* qui est traitée comme une sous-espèce d'*E. neohumbertii* plutôt que comme une espèce à part entière. Les espèces qui figurent en gras sont *a priori* celles représentées au sein de notre échantillonnage moléculaire. Les espèces figurées en orange sont taxonomiquement problématiques.

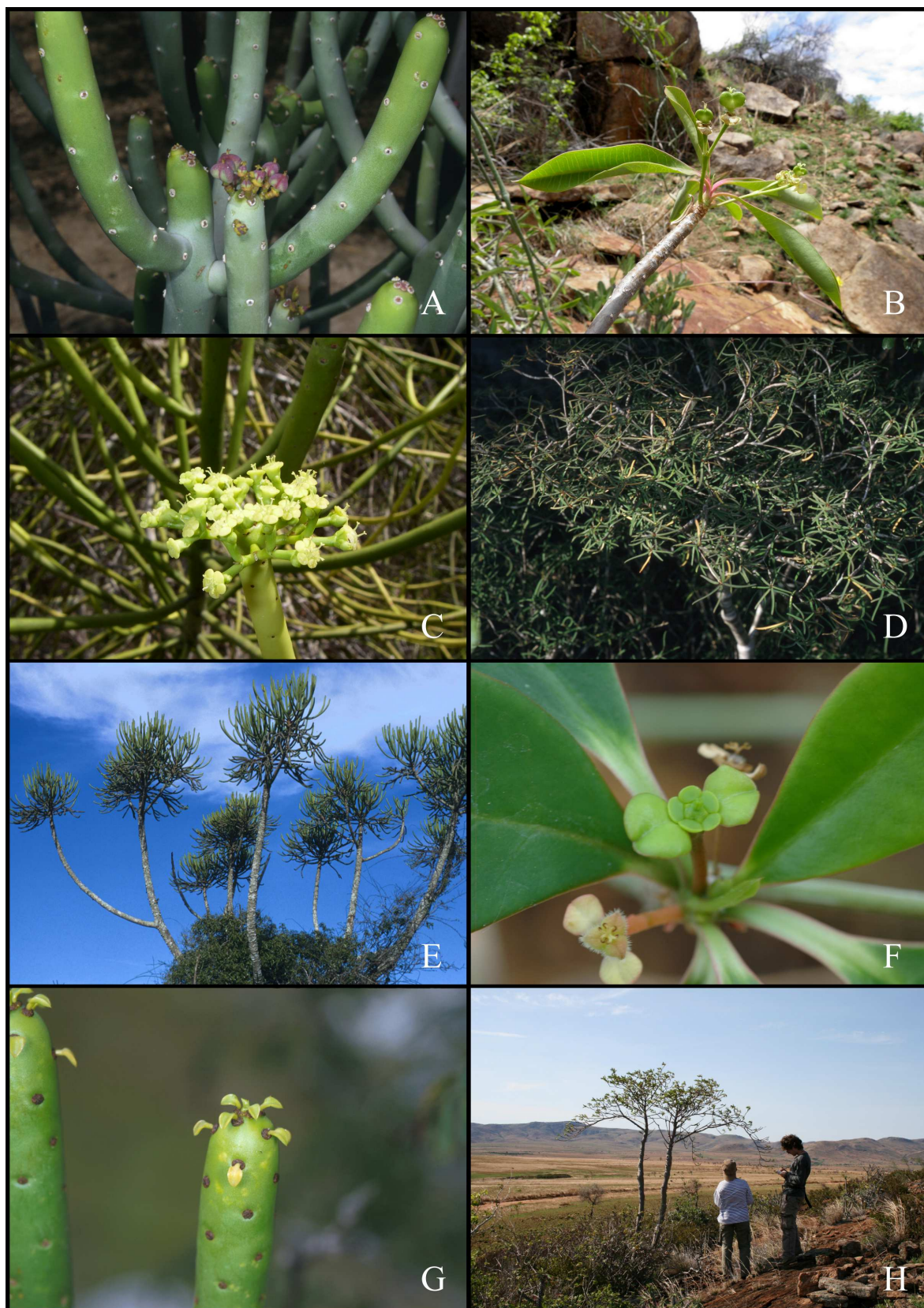


Figure I.7. Diversité des sections *Deuterocalli* et *Denisophorbia* à Madagascar **A.** fruits et tiges d'*E. cedrorum* (section *Deuterocalli*) ; **B.** fruit d'*E. sp.* (section *Denisophorbia*) ; **C.** cyathia d'*E. alluaudii* (section *Deuterocalli*) ; **D.** *E. hedyotoides* (section *Denisophorbia*) ; **E.** *E. alluaudii* (section *Deuterocalli*) ; **F.** cyathia d'*E. sp.* (section *Denisophorbia*) ; **G.** tige feuillée d'*E. alluaudii* (section *Deuterocalli*) ; **H.** *E. sp.* (section *Denisophorbia*). **A, D, E, F, G, H** T. Haevermans ; **B, C** X. Aubriot.

▪ **La section *Denisophorbia* (fide Dorsey et al. sous presse) :**

La sect. *Denisophorbia* comprend environ 13 espèces arborescentes, presque toutes dioïques, plus ou moins succulentes. On les distingue facilement par leur port en chandelier, trait architectural unique chez *Euphorbia*, similaire à l'architecture générale des *Terminalia* L. (*Combretaceae*). Les ramifications sont constituées d'une succession d'articles composés d'un hypopodium¹⁰ (Rauh & Bardot-Vaucoulon 1999), et d'un brachyblaste¹¹ apical. Avec un tronc monopodique à ramification rythmique¹² et des branches plagiotropes par apposition¹³, les espèces de cette section suivent typiquement le modèle architectural d'Aubréville décrit par Hallé & Oldeman (1970) (Figure I.7. H). Les stipules de ces espèces sont réduites à des glandes ; les capsules tricoques renferment trois graines à testa lisse et non-caronculées (Figure I.7. F).

Toutes les espèces du groupe sont endémiques de Madagascar où elles occupent des milieux variés depuis les hauts plateaux malgaches (e.g. *E. mahabobokensis*) aux forêts tropicales de la côte est (e.g. *E. rangovalensis*), à l'exception d'*E. pyrifolia* et d'*E. physoclada* originaires des îles voisines (Seychelles et île Maurice pour *E. pyrifolia* ; Mayotte pour *E. physoclada*).

Suivant la circonscription de Dorsey et al. (sous presse) qui est utilisée ici, la sect. *Denisophorbia* correspond en partie seulement à celle proposée par Coizat en 1972¹⁴. En effet, la sect. *Denisophorbia* sensu Croizat est un regroupement polyphylétique d'espèces malgaches caractérisées par un port arborescent, des stipules réduites à des glandes (absence d'épines) et des feuilles développées (Steinmann & Porter 2002, Haevermans 2003, Aubriot 2009). Une récente étude systématique du sous-genre *Euphorbia* a permis d'exclure de la sect. *Denisophorbia* les espèces non directement apparentées (e.g. espèces des sects. *Pachysanthae* et *Pervilleanae* ou du sous-genre *Rhizanthium*) et de proposer une section cohérente au niveau phylogénétique et morphologique (Dorsey et al. sous presse). Étant donné que cette section compte des espèces nouvelles et certaines espèces décrites dont les circonscriptions sont problématiques (e.g. *E. aprica*, *E. boivinii*, *E. pyrifolia*), la taxonomie de la sect. *Denisophorbia* utilisée ici (fide Dorsey et al. sous presse) reste provisoire.

¹⁰ Premier entre-nœud d'un rameau, long et dépourvu de feuilles.

¹¹ Rameau très court se terminant par des feuilles regroupées en bouquet.

¹² Croissance caractérisée par un fonctionnement saisonnier des méristèmes axillaires, aboutissant à des étages de branches.

¹³ Branche qui se construit par la juxtaposition de modules mixtes qui vont présenter une partie plagiotrope proximale (croissance horizontale) et une partie orthotrope distale (croissance verticale).

¹⁴ Premièrement décrite comme une sous-section de la section *Goniostema* par Leandri en 1957.



Figure I.8. Diversité de la section *Goniostema* A. *E. viguieri* ; B. *E. labatii* ; C. *E. thuarsiana* ; D. *E. capsaintemariensis* ; E. *E. bulbispina* ; F. *E. ankarensis* ; G. *E. didiereoides* ; H. *E. aff. mahafalensis*. A, B, C, E, F, H X. Aubriot ; D, G T. Haevermans.

▪ **La section *Goniostema* (fide Dorsey et al. sous presse) :**

La sect. *Goniostema* (= sous-genre *Lacanthis* fide Haevermans 2003, Haevermans et al. 2004, Haevermans et al. 2009) fait figure de section « géante » pour les euphorbes malgaches, étant donné qu'elle regroupe 107 taxa (75 espèces et 32 taxa infra-spécifiques) tous endémiques de la Grande Île (fide Haevermans 2009). Les euphorbes de cette section, toutes monoïques, sont connues pour leur habitus succulent et épineux, leurs cyathophylles développées et colorées (à l'exception d'*E. boissieri*) ainsi que pour l'importante diversité de leur morphologie générale. Les formes de vies représentées incluent : des petits arbres (e.g. *E. thuarsiana*), des buissons épineux (e.g. *E. milii*, *E. beharensis*) ou inermes (e.g. *E. geroldii*, *E. mangelsdorffii*) plus ou moins succulents, des plantes monocauls très succulentes que l'on nommera aussi « cactiformes » en raison de leur ressemblance avec les cactus (e.g. *E. viguieri*, *E. capmanambatoensis*) et des plantes naines chamaephytes à caudex (e.g. *E. francoisii*, *E. capsaintemariensis*) voire des vraies géophytes (e.g. *E. primulifolia*, *E. quartziticola*) (Figure I.8.). Plusieurs modèles d'architecture végétale ont été recensés pour les espèces de *Goniostema*, tels que le modèle de Corner (*E. lophogona*, *E. ankarensis*), de Tomlinson (*E. milii*, *E. cylindrifolia*) ou de Rauh (*E. duranii*, *E. horombensis*, *E. guillauminiana*) (Cremers 1977). La diversité morphologique des formations stipulaires est considérable (Figure I.9.) : la majorité des espèces présente des stipules développées en épines qui peuvent être de petite taille et souples (e.g. *E. parviccyathophora*), de grande taille et rigides (e.g. *E. ambarivatoensis*, *E. milii*), voire ramifiées et formant des peignes sur toute la longueur des tiges (e.g. *E. viguieri*, *E. lophogona*). Certaines espèces présentent des stipules réduites à de petites glandes laciniées (e.g. *E. thuarsiana*, *E. geroldii*) qui peuvent aussi présenter des formes en peigne (e.g. *E. ankarensis*, *E. leuconeura*). Les cyathophylles sont très développées et colorées chez les euphorbes de la section *Goniostema*. Elles peuvent être striées et orientées différemment en fonction des espèces. Chez certaines espèces, elles sont dressées et enveloppent plus ou moins entièrement la coupe du cyathium (e.g. *E. viguieri*) (Figure I.10.). Enfin, toutes les espèces de la section *Goniostema* possèdent des capsules tricoques qui contiennent des graines caractéristiques, à testa bosselé et dépourvues de caroncules.

La diversité morphologique des espèces de cette section est couplée à une occupation de tous les milieux écologiques de Madagascar. Si la grande majorité des espèces est concentrée dans la zone sub-aride du sud de l'île et dans une moindre mesure dans les zones de forêts sèches du nord et de l'ouest de Madagascar, quelques espèces occupent les forêts tropicales

humides de la zone Est (e.g. *E. thuarsiana*, *E. boissieri*) ou les hauts plateaux du centre de l'île (e.g. *E. primulifolia*, *E. milii* var. *milii*, *E. duranii*).



Figure I.9. Diversité des formations stipulaires pour la section *Goniostema* **A.** *E. aff. beharensis* ; **B.** *E. thuarsiana* ; **C.** *E. viguieri* ; **D.** *E. leuconaura* ; **E.** *E. bulbispina* ; **F.** *E. perrieri*. **A, B, C, D, E** X. Aubriot ; **F** E. Bidault.

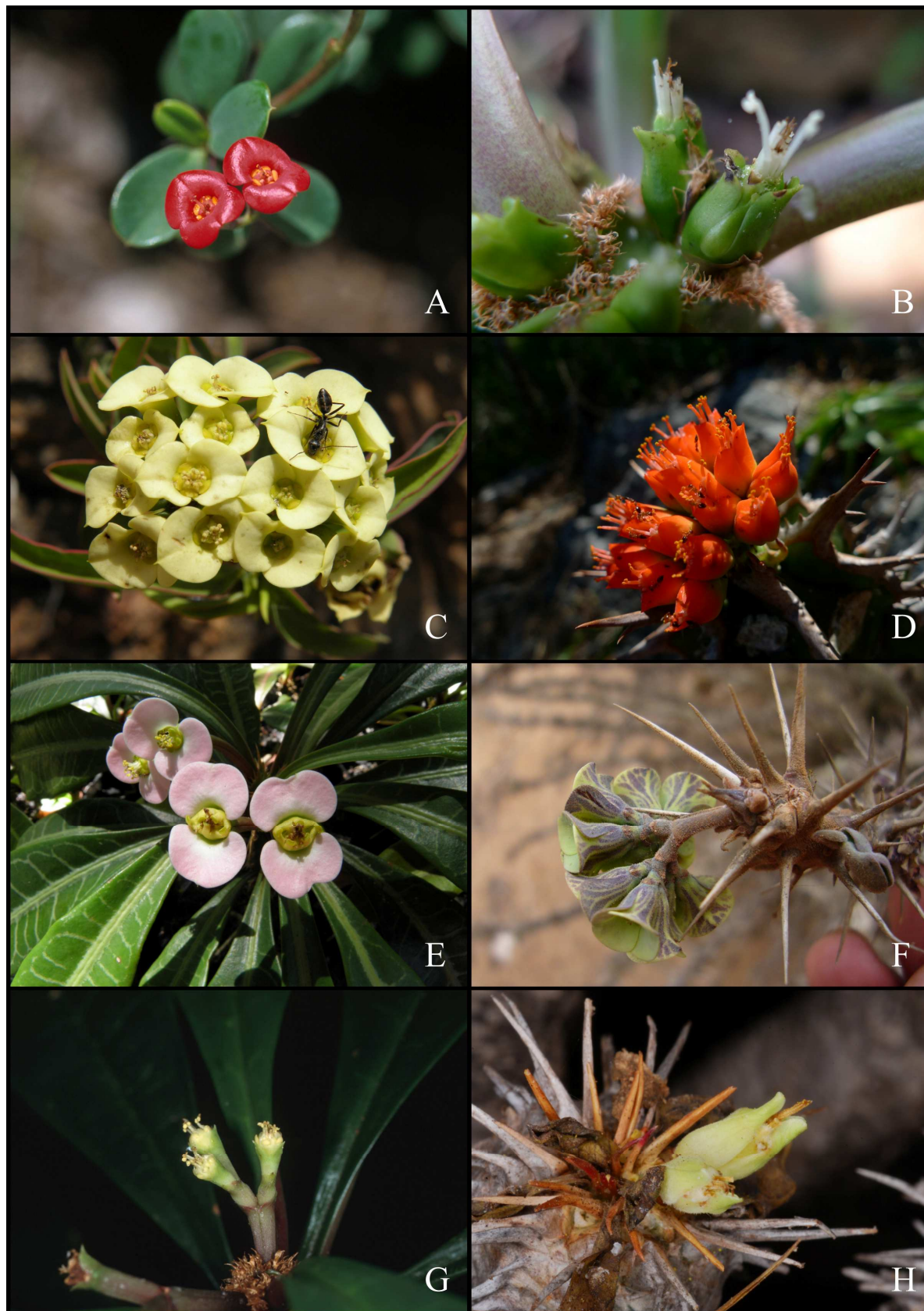


Figure I.10. Diversité des cyathes et des cyathophylles pour la section *Goniostema* **A.** *E. milii* var. *vulcani* ; **B.** *E. leuconeura* ; **C.** *E. milii* var. *longifolia* ; **D.** *E. viguieri* ; **E.** *E. lophogona* ; **F.** *E.* aff. *mahafalensis* ; **G.** *E. boissieri* ; **H.** *E. guillauminiana*. **B, C, D, E, F** X. Aubriot ; **A, G** T. Haevermans ; **H** E. Bidault.

Les limites taxonomiques de cette section sont sujettes à caution et les études phylogénétiques récentes ont permis de proposer une circonscription alternative intégrant le critère de monophylie (Haevermans 2003, Haevermans et al. 2004 et 2009, Dorsey et al. sous presse). Les travaux phylogénétiques d'Haevermans et al. (2004) ont montré que, suivant cette nouvelle circonscription, la sect. *Goniostema* incorpore en partie des espèces placées antérieurement dans des regroupements polyphylétiques et donc caduques, tels que le sous-genre *Lacanthis* sensu Gilbert (1987) ou le sous-genre *Rhizanthium* sensu Wheeler (1943). Le sous-genre *Lacanthis* sensu Gilbert est un groupe infra-générique créé dans le but de regrouper toutes les espèces malgaches épineuses apparentées à *E. milii* (qui sous le synonyme taxonomique d'*E. splendens* est le type du sous-genre), ainsi que les espèces malgaches géophytes et plusieurs espèces géophytes d'Afrique de l'Est (e.g. *E. rubella*, *E. brunellii*), traditionnellement classées dans le sous-genre *Rhizanthium* sensu Wheeler (aujourd'hui placées au sein du sous-genre *Euphorbia* — voir Dorsey et al. sous presse). La paraphylie de ce groupe a été montrée par Haevermans et al. (2004) qui ont re-circonscriit le sous-genre *Lacanthis* s.str. sur la base de la monophylie du groupe formé par les euphorbes malgaches du sous-genre *Lacanthis* sensu Gilbert. D'un point de vue nomenclatural, les travaux de Dorsey et al. (sous presse) ont abaissé le rang classificatoire de ce groupe taxonomique de sous-genre à section. En vertu des règles de priorité des noms infra-génériques (McNeill et al. 2006 : Article 11), le nom de la première section d'euphorbes décrite ayant pour type une euphorbe malgache proche d'*E. milii* a été utilisé. Ceci a conduit à la reconnaissance et la re-circonscription de la sect. *Goniostema* décrite par Boissier (1862) et lectotypifiée automatiquement par Wheeler en 1946 sur la base d'*E. lophogona* (voir Dorsey et al. sous presse).

L'étude phylogénétique d'Haevermans et al. (2004) a permis de résoudre en partie les relations de parenté inter-spécifiques au sein de la sect. *Goniostema*, et avait amené ses auteurs à suggérer une diversification de la sect. *Goniostema* depuis le nord de la Grande Île vers le sud, en liaison avec une adaptation des espèces au climat sub-aride du sud de l'île.

La taxonomie de la section est néanmoins partiellement floue : certaines espèces et presque tous les taxa infra-spécifiques sont basés sur des descriptions vagues, très proches les unes des autres et ne sont représentés que par du matériel fragmentaire (en particulier les espèces et sous-espèces apparentées aux espèces *E. mahafalensis*, *E. milii*, *E. decaryi* et *E. pedilanthoides*). Il est vraisemblable qu'une révision de la section amènerait à la reconnaissance de nombreux synonymes taxonomiques. Néanmoins, en l'absence de ce travail, nous considérerons que la récente révision nomenclaturale effectuée par Haevermans

et al. (2009) fournit les meilleures estimations du nombre d'espèces et de taxa infra-spécifiques disponibles à ce jour (i.e. 106 taxa dont 75 espèces et 31 taxa infraspécifiques).

3. Répartition géographique des euphorbes malgaches

Madagascar se situe au cœur d'un vaste réseau d'îles et d'archipels dont les principaux membres correspondent à l'archipel des Comores au nord-ouest de Madagascar, à l'archipel des Seychelles au nord et au nord-est, à l'archipel des Mascareignes (La Réunion, l'île Maurice et Rodrigues) à l'est et aux Îles Éparses situées tout autour de la Grande Île (l'île Europa, Bassas da India, l'île Juan de Nova, l'île Grande Glorieuse, l'île du Lys et l'île Tromelin). Cet ensemble d'îles dominées par Madagascar forme l'un des plus importants points chauds de la biodiversité de la planète (Myers et al. 2000), avec des taux d'endémisme impressionnants : pour les plantes vasculaires malgaches, les évaluations les plus récentes avancent 11220 espèces et un taux d'endémisme de 82% (Callmander et al. 2011). Les origines géologiques de la région qui regroupe Madagascar et les îles environnantes sont diverses. Madagascar, la quatrième plus grande île du monde, et la partie granitique de l'archipel des Seychelles sont des fragments du super-continent Gondwana, isolés depuis sa fracture il y a environ 135 Ma à 65 Ma (McLoughlin 2001). Les archipels volcaniques des Comores et des Mascareignes sont au contraire relativement jeunes avec des âges estimés allant de 0,5 à 15 Ma pour les Comores (Emerick & Duncan 1982) et de 2 à 10 Ma pour les Mascareignes (Cheke & Hume 2008).

Pour les îles proches de Madagascar, en termes d'espèces d'euphorbes, et à l'exception des traditionnelles espèces d'euphorbes pantropicales (Tableau I.1.), les espèces indigènes sont peu nombreuses : sur l'archipel des Comores, on ne compte que 3 espèces indigènes dont deux (*E. analalavensis* et *E. emirnensis*) sont également présentes à Madagascar. L'archipel des Seychelles et l'île Maurice comptent des populations appartenant à une ou plusieurs espèces endémiques, traditionnellement regroupées au sein d'une même espèce appartenant à la section *Denisophorbia*, *E. pyrifolia*. La Réunion compte une seule espèce endémique d'euphorbe, *E. borbonica* Boiss. L'île Europa enfin, abrite des populations d'*E. stenoclada*, un arbre malgache de la section *Tirucalli*. S'il faut chercher une origine à la diversité des espèces d'euphorbes observée sur ces îles, elle est donc vraisemblablement malgache.

Madagascar est connue pour la diversité des milieux écologiques que l'on y rencontre. Si la côte est de l'île est occupée par une forêt dense humide, l'extrême sud de l'île connaît un climat sub-aride sans saison humide. Sur la base des critères climatiques clés que sont le

déficit hydrique cumulé et la moyenne des minima du mois le plus froid, Cornet (1974) a défini 4 régions bioclimatiques (Figure I.11.) très étendues¹⁵ : *l'étage humide* qui correspond à la forêt tropicale humide de la façade est ; *l'étage subhumide* qui correspond aux hauts plateaux du centre (à dominante tropicale à l'est et sclérophylle à l'ouest) ; *l'étage sec* qui occupe les plaines, plateaux et formations karstiques de l'ouest et du nord de Madagascar (forêts caduques sèches) ; et *l'étage subaride* qui englobe toute la zone sud de l'île (bush aride à xérophytes).

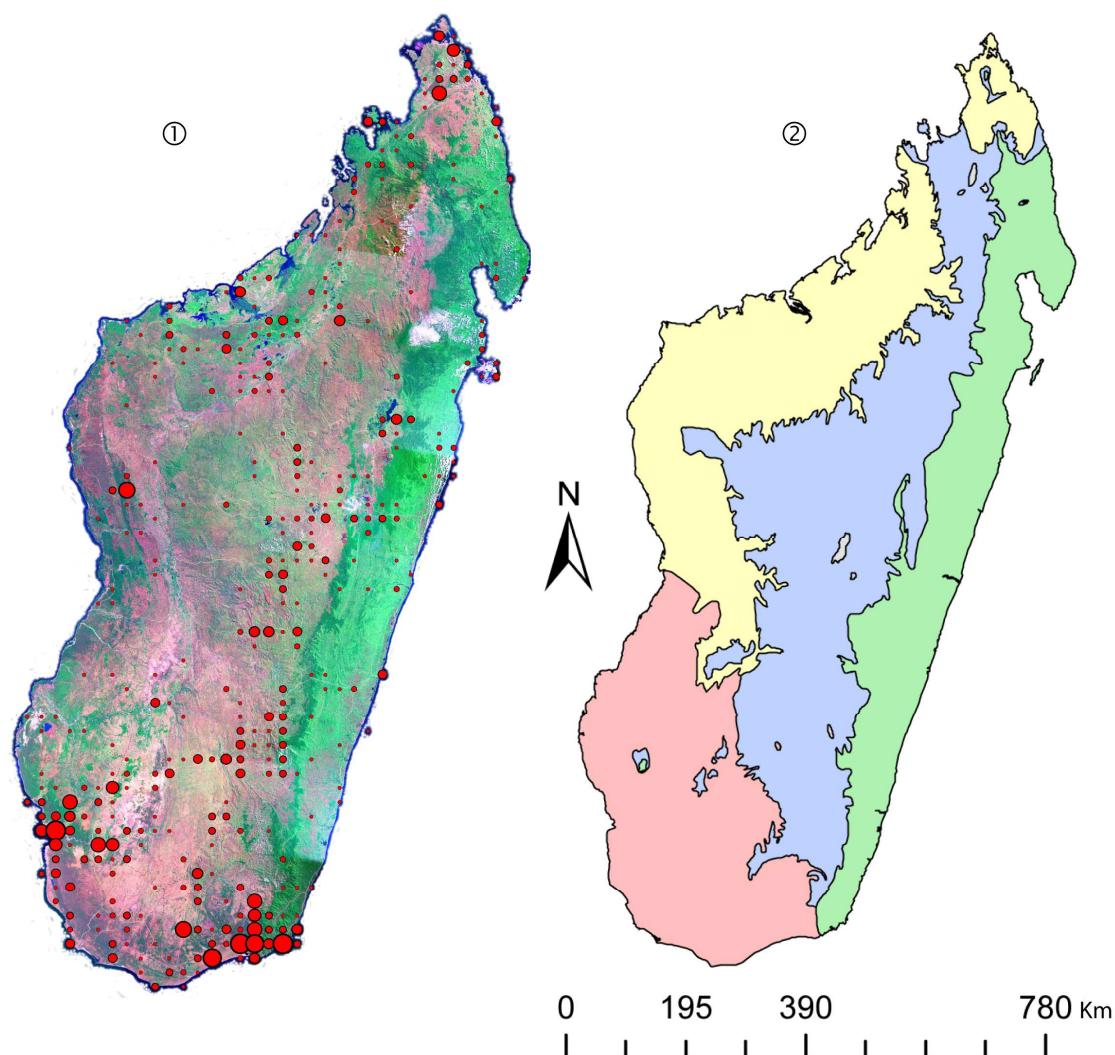


Figure I.11. Cartographies : ① Richesse spécifique du genre *Euphorbia* à Madagascar. Source : Laboratoire GIS de Kew, J. Moat & T. Haevermans ; basé sur tous les spécimens d'herbiers géoréférencés de K, HEID et P (2003). ② Carte des 5 grandes zones bioclimatiques de Cornet (1974) : en **vert** l'étage humide, en **bleu** l'étage sub-humide, en **jaune** l'étage sec et en **rouge** l'étage sub-aride. L'étage montagnard n'est pas traité dans ce travail de thèse. Il correspond aux quelques tâches gris-clair au sein de l'étage sub-humide.

¹⁵ L'étage montagnard défini par Cornet (1974) est très localisé et ne sera pas utilisé dans le travail de thèse. Nous n'en parlons donc pas ici.

Les euphorbes se retrouvent dans toutes ces régions, sur tous les types de substrat (Figure I.12.) mais la distribution du genre à Madagascar n'est pas homogène. Les parties sud et nord-ouest de l'île concentrent ainsi la majorité des espèces d'euphorbes, avec une plus faible représentation du genre sur la côte est et dans la zone centrale des hauts plateaux (Figure I.11.). Récemment plusieurs travaux de terrain ont eu lieu dans des zones jusqu'alors peu explorées (e.g. région de Daraina, presque île d'Ampasindava, tsingy du Namoroka). Le petit nombre d'espèces d'euphorbes qui y ont été retrouvées suggère que la distribution hétérogène du genre *Euphorbia* à Madagascar ne serait pas de nature artefactuelle (i.e. sous-échantillonnage des régions difficiles d'accès).

Du point de vue de la zone de répartition des espèces, si chacune des grandes régions bioclimatiques est occupée par des espèces d'euphorbes malgaches, la grande majorité des espèces se retrouve dans des zones géographiques très restreintes, ce qui amène à des situations de micro-endémisme étonnantes. Les espèces ou les groupes d'espèces croissent ainsi dans des régions de prédilection qui combinent des caractéristiques écologiques et édaphiques très particulières (Haevermans 2003). À titre d'exemple, on peut citer *E. quartziticola* qui pousse sur les massifs quartzitiques de l'Itremo (Figure I.12.), *E. bulbispina* qui croît sur quelques localités karstiques des environs de Diego Suarez (Antsiranana) ou *E. capmanambatoensis* qui n'est connue que du cap Manambato, au nord de Vohémar (Figure I.12.). Les exemples de ce type sont légion mais il est impropre de considérer les cas de micro-endémisme comme indubitables, étant donné qu'il est difficile d'estimer si le micro-endémisme observé est un artefact dû à des biais d'échantillonnage ou s'il s'agit du reflet de la distribution réelle de l'espèce. Néanmoins, les travaux de terrains récents ont, dans certains cas, confirmé la répartition géographique restreinte de certaines espèces (e.g. *E. mananarensis*, *E. bulbispina*, *E. labatii*, *E. capmanambatoensis*, *E. salota*) ou ont, dans une moindre mesure, étendu les zones d'occupation potentielles (e.g. *E. mandravioky*, *E. boissieri*) (X. Aubriot and T. Haevermans, pers. obs. — voir Chapitre 2). À l'heure actuelle, aucune étude n'a exploré en détail les divers facteurs qui pourraient expliquer cette singulière répartition géographique.



Figure I.12. Diversité des milieux de vie des euphorbes malgaches **A.** *Euphorbia ambarivatoensis* dans son milieu de vie (substrat karstique du massif de l'Ankarana, nord de Madagascar) ; **B.** *E. perrieri* dans son milieu de vie (forêt humide de basse altitude, presqu'île d'Ampasindava, nord-ouest de Madagascar) ; **C.** *E. capmanambatoensis* dans son milieu de vie (falaises au cap Manambato, nord-est de Madagascar) ; **D.** *E. horombensis* dans son milieu de vie (hauts plateaux de l'Horombe, sud de Madagascar) ; **E.** *E. mandravioky* dans son milieu de vie (forêt de la Montagne des Français, nord de Madagascar) ; **F.** *E. thuarsiana* dans son milieu de vie (forêt humide de bord de côte, près de Foulepointe, est de Madagascar) ; **G.** *E. plagiantha* dans son milieu de vie (hauts plateaux, centre de Madagascar) ; **H.** *E. quartzitcola* dans son milieu de vie (formations quartzitiques du plateau de l'Itremo, centre de Madagascar). **A, B, C, E, F** X. Aubriot ; **D, G, H** T. Haevermans.

4. Conservation et critères IUCN pour les euphorbes malgaches

Madagascar, l'un des points chauds de la biodiversité (Myers et al. 2000), est aussi l'une des régions du monde la plus touchée par les activités humaines destructrices comme les activités minières et la déforestation. L'analyse comparée des photographies aériennes et des images satellitaires Landsat a montré que la couverture forestière malgache a été réduite de presque 40% depuis les années 1950 (Harper et al. 2007).

Comme nous l'avons précisé ci-dessus, les euphorbes malgaches sont le plus souvent inféodées à des milieux qui disposent de conditions climatiques singulières et croissent dans des substrats très spécifiques. Ceci pourrait expliquer que le micro-endémisme soit aussi répandu chez les euphorbes malgaches. La déforestation, notamment au moyen de feux de brousse incontrôlés qui constituent une pratique commune à Madagascar (Kull 2000), met ainsi en péril la survie d'une multitude d'espèces. En outre, les euphorbes succulentes malgaches représentent une source d'attrait majeure pour les amateurs de plantes succulentes, attrait d'autant plus important qu'il s'agit souvent d'espèces rares, occupant des zones géographiques difficiles d'accès. Les récoltes sauvages et le commerce illicite de ces espèces représentent une source supplémentaire de pressions pour les euphorbes malgaches, ce qui conduit parfois à l'extinction de populations entières (X. Aubriot and T. Haevermans, obs. pers.)

La pression de collecte relative aux espèces d'euphorbes succulentes ne se limite pas aux seules espèces malgaches et, devant les risques environnementaux manifestes, la CITES (Convention for International Trade of Endangered Species — <http://www.cites.org/>) a restreint le commerce international des espèces d'euphorbes succulentes. Cette convention internationale a pour but de veiller à ce que le commerce et l'échange de spécimens de plantes ou d'animaux (vivants, morts ou transformés) ne menacent par la survie des espèces auxquelles ils appartiennent. Les pays signataires de la convention s'engagent à ce que le commerce et les mouvements des taxa inscrits aux Annexes I et II de la convention soient régulés (les spécimens des espèces inscrites à l'Annexe I étant strictement non-commercialisables et non-exportables ou réexportables). Toutes les euphorbes succulentes sont inscrites à l'Annexe II de la CITES et 10 espèces de *Goniostema* naines (géophytes ou chaméphytes naines) sont inscrites à l'Annexe I (liste disponible sur le site web de la CITES : <http://www.cites.org/eng/app/appendices.php>). Comme l'a fait remarquer Haevermans (2003), cette classification n'est pas satisfaisante car elle ne se base que sur le concept de succulence dont l'interprétation peut être ambiguë. Ce choix de classification puise vraisemblablement

ses origines dans le déficit de connaissances taxonomiques de références disponibles pour le genre *Euphorbia*. Les 10 espèces de *Goniostema* inscrites à l'Annexe I de la CITES ne sont pas représentatives de la diversité des euphorbes malgaches naines et de nombreuses espèces succulentes se retrouvent soumises à des pressions équivalentes (X. Aubriot and T. Haevermans, pers. obs.). Étant donné la dégradation constante des écosystèmes naturels à Madagascar et vu que l'actuelle instabilité politique et sociale est de nature à encourager une recrudescence des prélèvements et des exportations sauvages, se pose naturellement la question de la révision des Annexes CITES pour les euphorbes malgaches.

Le travail effectué en 2003 par Haevermans a permis de formaliser les menaces pesant sur les euphorbes malgaches en assignant à chacune un code standardisé ou critère IUCN (International Union for Conservation of Nature — www.iucn.org), sur la base du géoreférencement des spécimens d'herbiers en collection au Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris (MNHN), à Kew (K) ou à Heidelberg (HEID). et des observations de terrains effectuées par Haevermans. Cette étude a montré qu'environ 80% des espèces d'euphorbes malgaches sont « Menacées », i.e., soient « Vulnérables », « En danger » ou « En danger critique d'extinction ». Plusieurs observations limitent ce constat : d'une part de nombreuses espèces restent peu documentées, d'autre part certaines espèces jusque là énigmatiques ont été récoltées récemment, parfois dans de multiples localités. Enfin de nombreuses espèces ont une circonscription taxonomique encore vague. Une révision générale des risques d'extinction des euphorbes malgaches selon les critères IUCN est en cours de préparation.

V. Problématiques du travail de thèse

Compte tenu de ce que nous savons de la diversité du genre *Euphorbia* à Madagascar, il semble constituer un groupe d'étude particulièrement adapté à l'exploration des moteurs de la diversification des espèces à Madagascar. L'exceptionnelle diversité morphologique des euphorbes malgaches et leur répartition ubiquiste (sous tous les types de climat, sur tous les substrats), sont autant d'aspects potentiellement intéressants pour illustrer ou expliquer l'histoire évolutive du genre à Madagascar. Toutes ces études demandent cependant un certain nombre de pré-requis au rang desquels les plus importants sont : la nécessité de pouvoir se référer à une taxonomie la plus fiable possible, la résolution des liens de parenté entre espèces et enfin la connaissance des milieux de vie des espèces.

Concernant ces derniers points, de nombreuses zones d'ombre persistent et certains groupes infra-génériques nouvellement circonscrits disposent d'une taxonomie ambiguë (e.g.

les sections *Pachysanthae*, *Pervilleanae* ou *Denisophorbia*). Les relations de parenté entre les espèces de sections phylogénétiquement proches (et à l'intérieur même de ces sections) sont encore largement sujettes à caution (e.g. la phylogénie des sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema*).

Ce travail de thèse s'est attaché à explorer plusieurs aspects de la connaissance du genre *Euphorbia*, des études alpha-taxonomiques à l'estimation des vitesses de diversification au sein de plusieurs lignées malgaches en passant par la résolution des relations de parenté. On peut le diviser selon les trois grands axes suivants :

(1) Afin de contribuer à l'amélioration de la taxonomie générale des euphorbes malgaches, nous avons dans un premier temps révisé les espèces de la section *Pachysanthae* (ou groupe d'*E. pachysantha*), le plus énigmatique des clades d'euphorbes malgaches. Nous avons identifié et résumé les caractéristiques morphologiques singulières des espèces de ce clade au positionnement phylogénétique problématique. En outre, deux espèces nouvelles pour la science ont été décrites.

(2) Pour la section *Pachysanthae* comme pour les autres sections d'euphorbes malgaches, les circonscriptions morphologiques des espèces restent relativement difficiles à définir, ce qui complexifie considérablement le processus d'identification et le travail de révision taxonomique. Étant donné l'état fragmentaire des échantillons d'herbier en collection, et la difficulté à différencier les unes des autres les espèces proches, le seul outil morphologique ne permet pas toujours de fournir des identifications indubitables. Dans l'optique d'utiliser les données moléculaires pour aider au processus d'identification (et conjointement de révision taxonomique), nous avons testé l'approche du barcoding ADN sur un échantillonnage représentatif de la diversité des euphorbes malgaches. Le succès encourageant d'une telle approche nous permet d'envisager l'utilisation de cette méthode dans le cadre de la réglementation des euphorbes malgaches (e.g. régulation du commerce selon la convention CITES), ainsi que dans un cadre de révision taxonomique (circonscriptions des espèces et descriptions d'espèces nouvelles).

(3) Le clade qui réunit les sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema* (ou « clade GDD ») a la particularité de représenter environ 70% de la diversité des euphorbes malgaches et, de ce fait, constitue donc un groupe taxonomique particulièrement indiqué pour l'exploration des processus de diversification des euphorbes malgaches ainsi que pour la mise en relation des études phylogénétiques, des données morphologiques et des paramètres éco-géographiques. Des études phylogénétiques basées sur le plus large échantillonnage taxonomique disponible à ce jour et sur la plus grande quantité de données moléculaires

jamais utilisées pour les euphorbes malgaches, ont permis d'obtenir une topologie particulièrement bien résolue. À l'aide des modèles d'horloges moléculaires, la phylogénie du clade GDD a pu être inscrite dans un cadre temporel et les dates de divergence des lignées ont été estimées. Les outils statistiques de modélisation phylogénétique ont consécutivement mis en évidence des variations dans les taux de diversification au sein de la section hyperdiversifiée *Goniostema*. L'histoire évolutive du clade GDD a servi de cadre à la reconstruction de l'histoire de plusieurs caractères morphologiques clés. Elle a aussi permis d'inscrire dans un cadre phylogénétique l'observation des grands patrons climatiques associés aux aires de distribution des espèces. Enfin, les corrélations entre quelques grands traits morphologiques liés à la succulence et une sélection de variables climatiques ont été testées à l'aide de modèles statistiques qui prennent en compte les liens de parenté entre espèces. Ceci a permis d'explorer le rôle potentiel des paramètres climatiques dans l'évolution de la succulence des espèces du clade GDD. Toutes ces études ont permis d'amorcer une réflexion sur la nature et les causes du phénomène de radiation évolutive observé au sein du clade GDD.

Chapitre 2

Matériels et protocoles : échantillonnage et travaux de laboratoire

I. Acquisition du matériel d'étude

1. Quel échantillonnage pour ce travail de thèse ?

La constitution de l'échantillonnage des euphorbes malgaches devait permettre de répondre aux objectifs de recherche développés dans ce travail de thèse. L'ensemble des recherches effectuées étant centré sur l'obtention et l'utilisation de phylogénies moléculaires (à l'exception des travaux de taxonomie traditionnelle), il était souhaitable d'optimiser l'acquisition des données moléculaires et l'échantillonnage taxonomique. L'extraction de matériel génétique à partir d'exsiccata conservés en herbier ne donne généralement pas de résultats satisfaisants (Haevermans & Aubriot, obs. pers.). La réussite de l'extraction et la qualité des séquences obtenues sont dépendantes de nombreux facteurs tels que la technique de séchage utilisée, la partie de la plante prélevée lors de la récolte, ou l'âge du matériel. Étant donné que les exsiccata malgaches du genre *Euphorbia* récoltés durant les trois derniers siècles sont parfois parcellaires et en mauvais état de conservation, l'extraction directe sur échantillon d'herbier semblait *a priori* inenvisageable. Nous avons donc concentré nos efforts sur l'obtention de matériel frais échantillonné *in situ* ou dans les collections de plantes vivantes.

Que ce soit pour les études d'identification à l'aide du barcoding ADN ou pour les analyses phylogénétiques, il était idéal de disposer, pour chaque espèce, de la diversité intra-spécifique maximale. Lors des derniers travaux de récoltes *in situ* à Madagascar (Haevermans & Aubriot, données non publiées), l'accent a donc été mis sur l'acquisition de plusieurs échantillons par espèce, en collectant lorsque cela était envisageable, plusieurs individus par localité et plusieurs localités pour une même espèce. Compléter les récoltes *in situ* par un large échantillonnage des collections de plantes vivantes spécialisées dans le genre *Euphorbia* a permis d'augmenter et d'ajouter du matériel de certains taxons.

Nous nous sommes efforcés de disposer de séquences pouvant être directement associées à des exsiccata conservés en collection, nécessaires pour la publication des résultats obtenus. Ces échantillons d'herbier devaient disposer de l'ensemble des informations de récoltes, renseignements qui sont capitaux pour assurer la traçabilité du spécimen (et de son

identification) dans les bases de données. Il s'agit des traditionnelles informations de récolte (date de récolte, récolteur, lieu de récolte, etc.) mais aussi des coordonnées géographiques, ainsi que des caractères morphologiques et phénologiques telles que la forme, la couleur ou les mensurations des individus.

Les analyses d'évolution de niches écologiques mettent en relation des données d'ordre phylogénétique, morphologique et des informations sur la présence des espèces sous forme de coordonnées géographiques. Afin de disposer d'un nombre suffisant de données de présence, nous avons utilisé tout l'échantillonnage des euphorbes malgaches disponible dans les collections d'exsiccata de l'herbier du Muséum national d'Histoire naturelle (P) (via la base de données en ligne SONNERAT — <http://coldb.mnhn.fr/Consultation?catalogue=1>) et dans les collections du Missouri Botanical Garden (MBG) (via la base de données en ligne TROPICOS — <http://www.tropicos.org/>).

2. Collections d'exsiccata et de matériel en alcool utilisées

Les travaux taxonomiques et phylogénétiques ont été réalisés en lien avec les collections d'euphorbes malgaches disponibles dans les différents grands herbiers mondiaux et principalement à l'herbier du Muséum national d'Histoire naturelle (P), qui dispose de la plus importante collection mondiale d'exsiccata d'euphorbes malgaches. En effet, à ce jour environ 1840 échantillons d'euphorbes malgaches sont répertoriés dans la base de données en ligne de l'herbier du MNHN, SONNERAT (en comptant les doubles de récoltes). Sur tous ces exsiccata, 143 sont identifiés comme spécimens types, faisant de cet herbier un lieu incontournable pour l'étude des euphorbes malgaches.

Les observations morpho-anatomiques pour le travail taxonomique ont été effectuées sur les exsiccata mais, à l'état sec ou sur du matériel réhydraté provenant de ces derniers. Dans certains cas, les exsiccata étaient doublés par des échantillons préservés dans un liquide conservateur (mélange alcool/eau glycinée ou formaldéhyde/acide acétique/alcool – FAA), échantillons qui ont permis une meilleure observation de certains caractères anatomiques clés (volume, importance de la succulence, etc.).

Les caractères morphologiques souvent impossibles à observer en herbier (i.e. port général de la plante, caractères liés aux tissus ligneux, écologie des espèces) ont pu être obtenus à l'aide de l'importante littérature disponible sur le genre *Euphorbia* ainsi qu'à l'aide du matériel iconographique (photographies, dessins d'observation) consultable en ligne (base

de données tels que SONNERAT ou TROPICOS) ou fournis personnellement par les récolteurs.

Pour certaines espèces, les échantillons en collection cités dans des travaux précédents sont perdus, dégradés ou partiels et la littérature qui s'y rapporte peu informative. Dans ces cas précis, les missions de collectes *in situ* ou dans les collections vivantes ont joué un rôle important.

3. Investigation des collections vivantes les plus importantes

Avant ce travail de thèse, les principales collections de plantes vivantes spécialisées dans le genre *Euphorbia* (et plus généralement dans les plantes succulentes) avaient été investiguées par T. Haevermans lors de plusieurs travaux de collecte (2001, 2003, 2006, 2009). Ces récoltes sur collections vivantes ont permis à elles seules de recueillir ~ 90 taxa d'euphorbes malgaches. Six principales collections d'euphorbes vivantes ont pu être visitées.

(1) Deux collections en France : l'une est gérée par le MNHN et située dans les serres tropicales de l'arboretum de Chèvreloup (Rocquencourt, Yvelines) ; l'autre l'est par le Jardin Botanique des Cèdres (Saint-Jean-Cap-Ferrat, Alpes-Maritimes). La collection des serres tropicales de l'arboretum de Chèvreloup est une collection de référence pour les euphorbes malgaches et présente des espèces rares et menacées ainsi que des taxons potentiellement nouveaux. Ce travail de thèse a, entre autre, permis d'enrichir ces collections avec des individus récoltés vivants sur le terrain (voir ci-dessus). Pour certains, ce sont aujourd'hui *a priori* les seuls spécimens de ces espèces croissant hors de Madagascar.

(2) Une collection en Allemagne et une autre aux au Pays-Bas, constituées toutes les deux des plantes vivantes ramenées de Madagascar par W. Rauh. Elles sont conservées respectivement dans les serres des jardins botaniques d'Heidelberg (Bade-Wurtemberg, Allemagne) et de Wageningen (Gelderland, Pays-Bas). Elles se trouvent parmi les collections publiques d'euphorbes malgaches les plus riches au monde et recèlent notamment des spécimens vivants sur lesquels le matériel type a été prélevé. Au total plus de 143 individus ont pu être y être échantillonnés (14 échantillons à Heidelberg et 129 à Wageningen).

(3) À Madagascar, il a été possible d'étudier les spécimens croissant dans les rocailles du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza (Antananarivo) et de l'arboretum d'Antsokay (Tuléar). Certains individus particulièrement intéressants y ont été échantillonnés.

L'échantillonnage des collections de plantes vivantes présente néanmoins l'inconvénient de ne disposer que d'informations morphologiques difficilement extrapolables

à l'environnement naturel de la plante. Ainsi l'habitus d'un individu en collection est souvent très différent de celui de son milieu d'origine. En outre, rien ne permet d'exclure que certains spécimens en collection soient le produit d'évènements d'hybridation entre individus d'espèces d'euphorbes malgaches différentes (souvent gardées ensemble en collection depuis plusieurs dizaines d'années) (Haevermans 2003). Tous les individus qui proviennent des collections d'Heidelberg, de Wageningen et de Chèvreloup sont liés à des informations qui indiquent leurs localités d'origine.

L'augmentation en qualité et en quantité de l'échantillonnage taxonomique a alors été assurée par plusieurs séries de travaux de terrain réalisés par T. Haevermans, X. Aubriot et des collaborateurs durant la période s'étendant de 2001 à aujourd'hui. Au cours de ce travail de thèse, il a été possible d'effectuer trois missions ciblées à Madagascar (environ 3 mois entre novembre 2009 et février 2011) qui nous ont permis de recueillir l'échantillonnage le plus complet disponible à l'heure actuelle pour les euphorbes malgaches, que ce soit au niveau de la diversité inter- ou intra-spécifique.

4. Travaux de terrain à Madagascar

Avant le début des travaux effectués pour cette thèse, des missions de terrains réalisées par T. Haevermans à Madagascar et dans les îles alentours depuis 2001 ont permis de constituer un large échantillonnage d'environ 400 échantillons d'euphorbe (~ 80 espèces) venant compléter le matériel provenant des collections de plantes vivantes. Une description détaillée de ces travaux de terrain est consultable dans Haevermans (2003).

Ce travail de thèse a permis de compléter l'échantillonnage par des prospections dans des zones de Madagascar peu ou pas assez explorées jusque là, lors de trois missions de terrain.

Toutes les récoltes ont été effectuées suivant le même protocole : à chaque échantillon d'herbier prélevé et séché au gaz est associé un petit fragment de plante (en majorité des fragments de feuilles¹⁶) conservé en silicagel pour les études moléculaires suivant la méthode décrite par Chase & Hills (1991), et éventuellement des organes conservés en alcool pour des études morpho-anatomiques (fleurs, fruits et feuilles ou dans certains cas, la plante entière). Plusieurs échantillons étaient prélevés pour une même récolte afin de déposer des doubles dans les principaux herbiers internationaux ainsi qu'à l'herbier du Jardin Botanique et Zoologique de Tsimbazaza (TAN) à Antananarivo. Enfin, de manière à disposer du plus

¹⁶ Lorsque la plante ne présente pas de feuilles, il s'agit de fleurs, ou dans certains cas de l'apex des tiges.

important échantillonnage intra-spécifique possible (principalement pour les analyses moléculaires), plusieurs individus étaient échantillonnés par population lorsque cela était possible.

Ces travaux de terrains ciblés n'ont été possibles que grâce à une importante organisation en amont et en aval. D'un point de vue technique, les financements ont été fournis par des fonds publics issus de différents projets de recherche (détails dans les remerciements). Avec l'aide du CNRE malgache (Centre National de Recherche sur l'Environnement) et du MBG-Madagascar il a été possible d'obtenir les permis de récolte mais aussi d'exportation et d'importation pour toutes les récoltes (en particulier pour les espèces d'euphorbes malgaches qui sont pour la très grande majorité inscrites en Annexes I et II de la convention CITES).

La première mission de récolte a été effectuée dans le sud de Madagascar, principalement entre les villes de Fort-Dauphin (Tôlanaro) et de Tuléar (Toliary), durant la transition entre la saison des pluies et la saison sèche, du 17 novembre au 12 décembre 2009 (Figure II.1.). Le choix de cette période a été motivé par des considérations scientifiques et techniques. Ainsi durant la saison des pluies l'état des routes rend difficile toute circulation à Madagascar (y compris dans le sud de l'île où les routes sont surtout des pistes de terre impraticables à ce moment de l'année). En saison sèche, la grande majorité des euphorbes rentrent en état de dormance végétative. Cela rend impossible l'observation et la collecte de spécimens fertiles. Même si cette zone avait déjà été bien échantillonnée par le passé, de nombreuses espèces n'avaient été récoltées qu'une seule fois et plus jamais retrouvées (ou recherchées). Pour de nombreuses espèces nous ne disposions donc pas de matériel utilisable pour les études moléculaires et provenant de plantes à l'état sauvage (e.g. *E. beharensis*, *E. decaryi*). Cette première mission a permis de collecter 83 échantillons dont 68 individus d'euphorbes représentant environ 30 taxa (spécimens consultables via SONNERAT). Parmi ces récoltes, plusieurs espèces n'avaient pas (ou peu) été récoltées depuis leur description et n'étaient pas présentes dans l'échantillonnage moléculaire issu des spécimens d'herbier et des collections vivantes citées ci-dessus : c'est le cas d'*Euphorbia salota*, d'*E. mananarensis* (une dizaine de récoltes connues pour chacune) ou encore d'*E. banae* (juste connue de la localité type). Certaines espèces qui avaient été échantillonnées dans les collections vivantes l'étaient pour la première ou la deuxième fois dans leur milieu naturel (e.g. *E. beharensis*, *E. decaryi*, *E. intisy*, *E. orthoclada*, *E. mahafalensis*). Enfin, plusieurs individus collectés ont été reconnus comme de nouvelles espèces potentielles.

Résumés des plans de récolte 2009 - 2011

Premier travail de terrain (Novembre 2009 - Décembre 2009) ●

- * Ihoay -> Beraketa
- * Beraketa -> Fort-Dauphin
- * Environs de Fort-Dauphin :
 - Forêt littorale sur sable de Mandena
 - Forêt littorale sur sable de Petriky
 - Forêt littorale sur sable de Sainte-Luce
- * Environs d'Amboasary :
 - Vallée de la Mananara
 - Environs du lac Anony et embouchure de la rivière Mandrare
- * Ambovombe -> Ampanihy
- * Environs de la rivière Linta
- * Ampanihy -> Tuléar
- * Environs de Tuléar :
 - Forêt sèche sur sable d'Ifaty
 - Rives de l'Onilahy

Second travail de terrain (Mai 2010) ●

- * Forêt littorale sur sable d'Ananalava (Foulpointe)
- * Antalaha -> Vohémar
- * Environ de Daraina (région de la Loky-Manambato) :
 - Falaises karstique du cap Manambato
 - Forêt sèche de Bekaraoka
 - Environs de la forêt de Binara
- * Daraina -> Ambilobe
- * Massif karstique (Tsingy) de l'Ankarana de Diego-Suarez
- * Environ de Diego-Suarez :
 - Forêt littorale sur sable et karst d'Orangea
 - Forêt sur karst de la Montagne des français
 - Sommet de Windsor Castle

Troisième travail de terrain (Avril 2011) ●

- * Presqu'île d'Amipasindava :
 - Forêt humide de basse altitude d'Ambohimiravahavy
 - Forêt humide de basse altitude de Betsitsikabe
- * Ile de Nosy Be, forêt de la Lokobe
- * Environs de Maevatanana

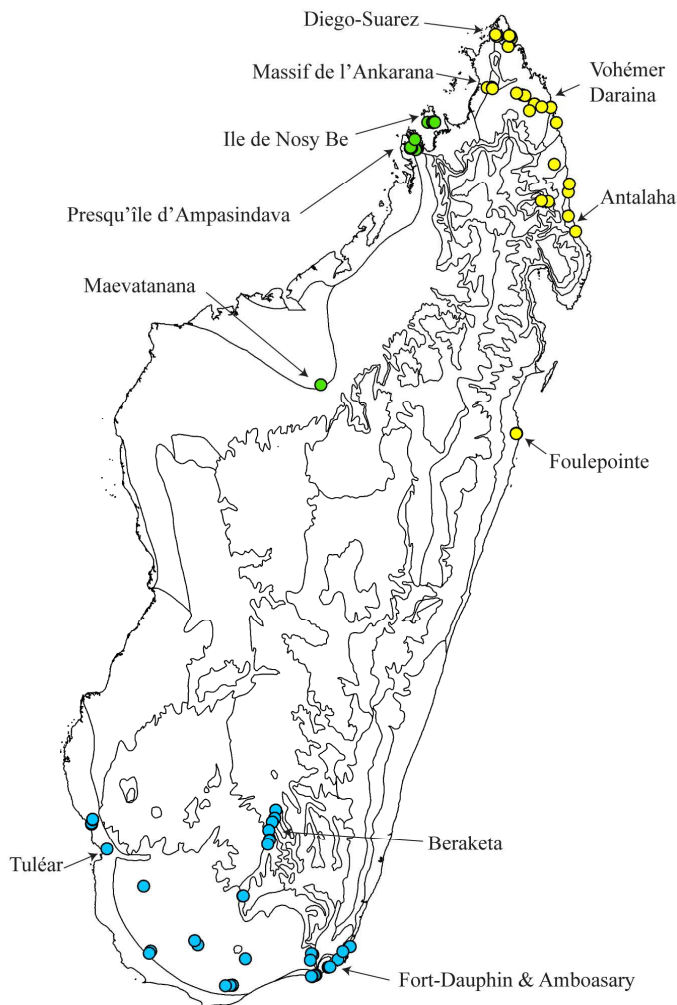


Figure II.1. Description résumée des travaux de terrain organisés et effectués dans le cadre du travail de thèse (2009 - 2011). Une carte de Madagascar (fide Cornet 1974) est fournie. Sur celle-ci sont figurés les différents lieux de récolte et les villes qui permettent de les localiser.

La deuxième mission de terrain s'est déroulée sur deux semaines environ en mai 2010 (Figure II.1.), en saison sèche, dans le nord-est de Madagascar, principalement entre les villes d'Antalaha et de Diego Suarez. Au vu des collections disponibles à l'herbier du MNHN, cette zone avait précédemment été explorée de façon superficielle, la majorité des travaux de récoltes ayant été concentrée sur les hauts plateaux ou les forêts sèches et subarides du Sud, là où s'exprime la plus grande diversité du genre *Euphorbia* à Madagascar. Souvent difficiles d'accès, les aires de distribution de ces espèces sont en majorité incluses dans des parcs naturels qui nécessitent des permis de récolte spécifiques (e.g. tsingy de l'Ankarana, région de Loky-Manambato ou forêt d'Orangea). Ces travaux de terrain ont permis de récolter 99 échantillons dont 28 euphorbes représentant environ 20 taxa (spécimens consultables via la base de données en ligne SONNERAT). La plupart des espèces récoltées n'étaient pas (ou

peu) représentées dans notre échantillonnage moléculaire et en herbier (*Euphorbia millotii*, *E. pachypodioides*, *E. mandravioky*, *E. labatii*). Néanmoins, plusieurs espèces peu documentées et seulement connues du spécimen type et de spécimens en culture n'ont pu être retrouvées (*E. mangelsdorffii*, *E. caput-aureum*).

La troisième mission de terrain s'est déroulée dans le nord-ouest de Madagascar en avril 2011 (saison sèche), sur environ 2 semaines, dans la région de l'île de Nosy-Be et de la presqu'île d'Ampasindava (Figure II.1.). Région peu explorée, la presqu'île d'Ampasindava avait fait l'objet de récoltes récentes qui présentaient un intérêt particulier (espèces peu présentes dans les collections, certaines espèces potentiellement nouvelles, etc.). Nos travaux sur l'île de Nosy-Be ont permis de collecter à nouveau *Euphorbia aprica* s.str., espèce regroupant vraisemblablement plusieurs taxons et dont le spécimen type est originaire de l'île. Au total, 101 récoltes ont été effectuées, dont 18 euphorbes représentant environ 10 taxa (spécimens consultables via SONNERAT). Bien que comparativement pauvre en espèces d'euphorbes, cette région de Madagascar présente pourtant des espèces qui ont été historiquement peu collectées, et que cette mission a permis de rajouter aux collections du MNHN et à l'échantillonnage utilisé pour ce travail de thèse.

5. Acquisition des données morphologiques, géographiques et écologiques

Ce travail de thèse (en particulier les analyses phylogénétiques et les études de niches écologiques) a nécessité, pour chaque espèce échantillonnée, une compilation des données morphologiques, géographiques et écologiques.

Les données morphologiques ont été renseignées, lorsque cela était possible, suite à l'observation de matériel frais dans le milieu d'origine ou dans les collections de plantes vivantes. Le cas échéant, les informations se présentaient sous forme de notes de récoltes ou de supports photographiques (disponibles dans les bases de données en tant que données liées aux herbiers ou directement fournies par les récolteurs).

Dans le cas contraire, les exsiccata disponibles ont été utilisés, et ont été couplés à la littérature disponible sur le sujet (protologues, révisions taxonomiques de groupes d'euphorbes malgaches, articles ou livres généralistes sur les espèces de plantes succulentes de Madagascar, etc.) et à l'expertise acquise sur le terrain durant ce travail de thèse. Toutes les informations ont été compilées en tableur Excel, ou lorsque le nombre de taxa et de caractères était particulièrement important, sous forme de base de connaissance par l'intermédiaire du logiciel Xper2 (Ung et al. 2010), plateforme dédiée à la description taxonomique et à

l'identification assistée par ordinateur. Ceci a permis de traiter conjointement l'ensemble des données et de les exporter aux formats requis pour les analyses (formats csv et nexus).

La caractérisation de l'écologie des espèces, notamment en prenant compte les paramètres d'ordre climatique et édaphique, a été utile ou nécessaire pour la presque totalité des travaux de thèses. Pour chacune des espèces de l'échantillonnage, nous avons donc extrait et rassemblé, sous forme de coordonnées géographiques (GPS), toutes les données de localisation exploitables. Ces coordonnées ont des sources variées et ont été obtenues de différentes façons. La plus grande partie des données a été obtenue à partir des informations de récoltes fournies avec les exsiccata. Les renseignements fournis par les grandes bases de données en ligne, telles que SONNERAT et TROPICOS ou le portail du Global Biodiversity Information Facility (GBIF) ont été compilés et recoupés. Dans la majorité des cas, les coordonnées géographiques ont été extrapolées *a posteriori* à partir des informations textuelles de localité fournies par le(s) récolteur(s). La grande majorité de ces extrapolations avait déjà été effectuée par un tiers et celles-ci ont été vérifiées et corrigées le cas échéant. Ces extrapolations ont ensuite été contrôlées ou effectuées en utilisant le programme d'information géographique Google Earth[®] qui fournit une résolution satisfaisante pour observer les formations végétales et les infrastructures humaines. Suivant les informations de récoltes, celles-ci peuvent en effet aider à affiner les localisations géographiques.

Certains lieux de récoltes restaient difficilement déterminables, à cause de la petite taille des localités associées, de l'ancienneté des récoltes, de l'imprécision de la description des localités et de la grammaire ou de l'orthographe déficiente des récolteurs. À l'aide de la base de données des localités malgaches du MBG (« Gazetteer to Malagasy Botanical Collecting Localities » — Schatz & Lescot 2005), nous avons pu situer la quasi-totalité des lieux de récoltes problématiques. Les coordonnées géographiques compilées dans cette base sont directement dérivées des informations de récoltes des principaux récolteurs ou des institutions malgaches qui ont constitué « les collections de base » pour la plupart des plantes malgaches (e.g. E. P. B. de Perrier de la Bâthie, J.-H. Humbert, les Réserves Naturelles, R. P. R. Capuron et le Service forestier malgache).

Malgré l'utilisation de tout le matériel disponible en collection, il n'a pas toujours été possible de réunir un nombre de données satisfaisant pour les études de modélisation de niches écologiques de certaines espèces. En effet, de nombreuses euphorbes malgaches sont sous-récoltées et ne sont connues que par leurs localités types. Ceci est lié autant au micro-endémisme qui les caractérise qu'à l'exploration parcellaire de la Grande Ile. En utilisant Google Earth[®] et les connaissances acquises sur l'écologie des espèces (notamment lors des

travaux de terrain), il a été possible de déterminer des jeux de coordonnées géographiques non liées à des récoltes. La prise en compte de ces jeux de points permet de représenter la distribution des espèces en question de façon plus exacte que lorsque leurs niches ne sont représentées que par une coordonnée unique.

Comme il était impossible d'obtenir pour tous les paramètres écologiques de chacune des espèces des données homogènes et précises, nous avons choisi de caractériser leur écologie en utilisant des paramètres climatiques (variables continues). Les paramètres éco-géographiques d'intérêts tels que l'inclinaison des pentes, l'altitude, la composition du substrat, la perméabilité des sols ou le régime des vents ne sont en effet pas disponibles pour chaque localité de Madagascar. Seules les données climatiques (les paramètres liés à la pluviométrie ou à la température à différents moments de l'année) sont facilement utilisables pour tout Madagascar.

Ces données sont décomposées en 19 paramètres climatiques dérivés de données sur les précipitations et les températures. Elles sont extraites de la base de données WorldClim (Hijmans et al. 2005) qui est une grille climatique spatialisée de haute résolution ($\leq 1 \text{ km}^2$), établie à l'échelle mondiale. Chaque cellule de la grille correspond à une « surface » climatique à laquelle est affectée une valeur pour chaque paramètre. Ces valeurs qui correspondent à des moyennes calculées sur la période 1950–2000, ont pu être obtenues par interpolation de données provenant de stations météorologiques à partir de méthodes statistiques. Nous avons ainsi pu obtenir les 19 variables climatiques pour tout le territoire malgache. Celles-ci sont réparties selon trois échelles temporelles : mensuelle, trimestrielle et annuelle (voir tableau en annexe ; Annexe II.1.).

II. Constitution de l'échantillonnage moléculaire

1. Nature de l'échantillonnage taxonomique et extraction de l'ADN

La collecte systématique des euphorbes malgaches dans les collections de plantes vivantes *ex-situ* et directement sur le terrain *in situ* a permis de réunir une large collection de matériel utilisable pour les études moléculaires. Ce matériel a été utilisé pour constituer une banque de séquences comptant à l'heure actuelle 636 extraits d'ADN¹⁷. Sur ces 636 extraits, 551 représentent la quasi-totalité des euphorbes malgaches¹⁸ connues ainsi qu'un certain nombre

¹⁷ Quelques individus ont été extraits plusieurs fois suite à des doutes quand à la qualité de l'extrait d'ADN obtenus lors de la (des) première(s) extraction(s).

¹⁸ Plus précisément, malgaches et des îles alentours (Mascareignes, Seychelles, Comores).

d'espèces nouvelles. L'ensemble des clades d'euphorbes malgaches décrits par Haevermans (2003) lors de son travail de thèse et retrouvés dans divers travaux sur la phylogénie du genre *Euphorbia* (Steinmann & Porter 2002, Bruyns et al. 2006, Zimmermann et al. 2010, Horn et al. 2012, Yang et al. 2012, Dorsey et al. sous presse) sont représentés dans la banque de séquences¹⁹. Pour la quasi-totalité des clades, nous disposons d'un échantillonnage exhaustif au niveau spécifique. *Euphorbia* sections *Denisophorbia*, *Tirucalli*, *Pervilleanae* et surtout *E. sect. Goniostema* comptent le plus grand nombre d'espèces et sont celles dont la taxonomie est la plus problématique (nombreuses nouvelles espèces, circoncriptions d'espèces peu précises). Néanmoins, en l'état actuel des connaissances taxonomiques, nous disposons vraisemblablement d'un échantillonnage hautement représentatif de la diversité spécifique de ces clades, ce qui en fait le premier échantillonnage de cette envergure pour les euphorbes malgaches (Tableau II.1.). L'échantillonnage taxonomique utilisé sera détaillé et discuté pour chacun des travaux de thèse.

Pour les besoins des analyses phylogénétiques, qui nécessitent la prise en compte d'échantillons assignés à des taxa n'appartenant pas aux groupes d'intérêts (i.e. les euphorbies malgaches), quelques espèces non malgaches ont aussi été extraites (86 individus). Ces échantillons, associés à leurs numéros uniques d'identification ainsi qu'à des numéros de récoltes, sont listés en annexe (Annexe II.2.).

Tout l'ADN des 636 échantillons a été extrait suivant une même technique. Les fragments séchés en

Clades sous-génériques d'Euphorbes malgaches	Clade A		Clade B		Clade D			Clade C			Nb total
	<i>E. aniso</i>	<i>E. emmerensis</i> et <i>E. orthocladia</i>	Sect. <i>Denisiae</i> , Sect. <i>Bossettiae</i> , Sect. <i>Plagianthae</i>	Sect. <i>Pachysanthae</i>	Sect. <i>Pervilleanae</i> et sect. <i>Tirucalli</i>	Sect. <i>Deuterocalli</i>	Sect. <i>Denisophorbia</i>	Sect. <i>Goniostema</i>			
Nb d'extrait du jeu de données	1	6	21	22	133	22	94	252	551		
Estimation du nb d'espèces correspondantes / Nb d'espèces estimées	1 / 1	2 / 2	6 / 7	3 / 6	17 / 20	2 / 3	8 / 13	63 / 75	102 / 127		

Tableau II.1. Nombre d'extraits d'ADN disponibles pour notre jeu de données, classés par grands clades infra-génériques (fide Steinmann & Porter 2002) et par sections de ces quatre grands clades (à l'exception des clades A et B pour lesquels les espèces malgaches ne sont pas rangées par sections — fide Yang et al. 2012, Dorsey et al. sous presse, Haevermans 2003). L'estimation du nombre d'espèces correspondant à ces extraits est fournie en relation avec le nombre total d'espèces estimées pour ces mêmes groupes (fide Yang et al. 2012, Dorsey et al. sous presse, Haevermans 2003).

¹⁹ À l'exception des espèces malgaches apparentées à *E. hirta* (sous-genre *Chamaesyce*) qui n'ont jamais été échantillonnées en vue d'analyses moléculaires.

silicagel on été broyés avec le Mixer Mill MM 300™ en utilisant des billes de carbure de tungstène (Qiagen Inc.) et du sable de Fontainebleau stérile. L'ADN des broyats a été extrait grâce au Dneasy™ Plant kit (Qiagen Inc.) en suivant le protocole du fabricant.

2. Exploration et sélection des régions de l'ADN

Le choix des régions d'ADN qui ont été utilisées pour ce travail de thèse répond à plusieurs impératifs : **(1)** Suivant les recommandations du CBOL Plant Working Group (2009), les régions *matK* et *rbcL* (toutes deux parties codantes de l'ADN chloroplastique) devaient être utilisées dans les études de barcoding ADN. **(2)** Afin de pouvoir comparer les apports relatifs de l'ADN nucléaire et chloroplastique, il était nécessaire de disposer de plusieurs marqueurs indépendants pour différents compartiments de l'ADN. **(3)** Les séquences obtenues après amplification devaient être d'une qualité suffisante afin de minimiser les biais éventuels introduits par les données manquantes ou douteuses. **(4)** Les marqueurs devaient présenter une variabilité suffisante pour contribuer à l'élucidation des relations de parenté entre les espèces d'euphorbes malgaches, ce qui implique l'utilisation de marqueurs particulièrement variables tels des portions de l'ADN nucléaire, des espaceurs intergéniques ou des introns.

Grâce aux jeux de séquences qui étaient déjà disponibles en début de thèse, il a été possible d'identifier des régions de l'ADN qui seraient amplifiées de manière systématique. En effet, suite aux travaux de laboratoires de T. Haevermans et al. (2003, 2004 et données non publiés) et de X. Aubriot (2009), nous avons déjà à notre disposition de nombreuses séquences pour cinq régions de l'ADN : pour le génome nucléaire, les deux espaceurs ribosomaux transcrits ITS (qui comprend lui-même les régions ITS1, 5.8S et ITS2) et ETS ; pour le génome chloroplastique, deux espaceurs inter-géniques *psbA-trnH* et *atpI-atpH*, et un intron *ndhA* (Tableau II.2.).

Au vu des séquences déjà disponibles pour chacune de ces régions et compte tenu de l'importante variabilité des amplicons obtenus (Aubriot 2009, Tableau II.2.), ces régions ont été amplifiées de façon systématique pour l'ensemble de la banque d'extraits. Les régions *matK* et *rbcL*, ont été amplifiées et séquencées en routine pour répondre aux critères du barcoding ADN (CBOL Plant Working Group 2009). Bien que peu variables, elles ont néanmoins été ajoutées aux autres marqueurs pour les analyses phylogénétiques. Afin de maximiser la résolution des analyses phylogénétiques, d'autres régions particulièrement variables ont été recherchées dans la bibliographie disponible.

En ce qui concerne le génome chloroplastique, nous nous sommes surtout basés sur le travail de Shaw et al. (2007). Les auteurs ont évalué, dans un cadre phylogénétique et sur un large échantillonnage taxonomique, l'apport potentiel de 13 régions du chloroplaste (majoritairement des espaceurs inter-géniques). Vu le nombre important de régions chloroplastiques déjà incorporées dans notre base de séquences suite aux travaux non publiés d'Haevermans et Aubriot (i.e. les marqueurs *atpI-atpH*, *psbA-trnH*, *ndhA*, *matK*, *rbcL*), et au regard des contraintes de temps et d'argent, nous avons décidé de ne rajouter à ce travail de thèse qu'un ou deux marqueurs chloroplastiques. Pour les choisir, nous avons investigué 3 marqueurs chloroplastiques *a priori* particulièrement variables : *rpl32-trnL*, *trnQ-5'rps16* et *ndhF-rpl32* (Tableau II.2.).

L'ADN nucléaire est connu pour fournir une forte variabilité, permettant ainsi d'obtenir un niveau de résolution adapté à l'exploration des liens de parenté entre espèces proches, souvent peu divergentes les unes des autres (Sang 2002, Small et al. 2002). Il a été possible de sélectionner, dans la bibliographie disponible, des régions de l'ADN nucléaire potentiellement intéressantes pour retracer l'histoire évolutive des euphorbes malgaches et en particulier des clades les plus diversifiés.

Tous les marqueurs pressentis ont été testés sur un pannel représentatif de la diversité des euphorbes malgaches pour vérifier leur variabilité et afin de s'assurer que leur utilisation soit généralisable à tous les groupes d'espèces. La liste de toutes les régions de l'ADN testées avec les amorces utilisées, le succès des amplifications, la qualité des séquences obtenues ainsi que la taille des régions associées figurent dans le tableau Tableau II.2.

À la suite de ces tests, il est apparu que la plupart des régions de l'ADN explorées n'étaient pas amplifiables telles quelles en utilisant les amorces publiées. Lors des tests de l'amplification par migration, seule la région chloroplastique *trnQ-5'rps16* et les régions nucléaires *G3pdh*, *npcGS*, *Sqd1*, *EIAdh* et *EILFy* ont présenté des bandes de migration d'une luminosité suffisante pour être clairement identifiées comme des produits de PCR *a priori* satisfaisants. Après purification et séquençage, seule la région chloroplastique *trnQ-5'rps16* s'est avérée fournir des séquences de qualité et de variabilité potentiellement suffisantes pour les études phylogénétiques. Les régions nucléaires *G3pdh*, *npcGS* et *Sqd1*, bien que particulièrement variables, étaient de mauvaise qualité et n'étaient amplifiables que pour certaines espèces de notre échantillonnage. Les régions nucléaires *EIAdh* et *EILFy* enfin, de petite taille, présentaient une faible variabilité. Sur l'ensemble des marqueurs testés, seule la région *trnQ-5'rps16* a donc été amplifiée en routine pour tout le jeu de données.

	Régions	Amorces	Séquences des primers (de l'extrémité 5' à 3')	Références	Ampli	Taille moyenne des contigs	Qualité des séquences	Variabilité
Régions chloroplastiques	<i>matK</i> ♦	matK 390 F mat K 1326R	CGA TCT ATT CAT TCA ATA TTT TCT AGC ACA CGA AAG TCG AAG T	Cuenoud et al. 2002 Cuenoud et al. 2002	++	~ 830 pb	++	+
	<i>rbcL</i> ♦	rbcL 1F rbcL 1460R rbcL 636F rbcL 724R	ATG TCA CCA CAA ACA GAA AC TCC TTT TAG TAA AAG ATT GGG CCG AG GCG TTG GAG AGA TCG TTT CT TCG CAT GTA CCT GCA GTA GC	Savolainen et al. 2000 Savolainen et al. 2000 Savolainen et al. 2000 Savolainen et al. 2000	++	~ 1455 pb	++	-
	<i>psbA-trnH</i> ♦	psbA trnH-GUG	GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT C CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC	Sang et al. 1997 Tate & Simpson 2003	++	~ 790 pb	++	++
	<i>atpI-atpH</i> ♦	atpI atpH	TAT TTA CAA GYG GTA TTC AAG CT CCA AYC CAG CAG CAA TAA C	Shaw et al. 2007 Shaw et al. 2007	++	~ 980 pb	++	++
	<i>ndhA</i> ♦	ndhAx1 ndhAx2	GCY CAA TCW ATT AGT TAT GAA ATA CC GGT TGA CGC CAM ARA TTC CA	Shaw et al. 2007 Shaw et al. 2007	++	~ 1140 pb	++	++
	<i>trnQ-5' rps16</i> ♦	trnQ(UUG) rps16x1	GCG TGG CCA AGY GGT AAG GC GTT GCT TTY TAC CAC ATC GTT T	Shaw et al. 2007 Shaw et al. 2007	++	~ 770 pb	++	++
	<i>rpl32-trnL</i>	trnL(UAG) rpl32-F	CTG CTT CCT AAG AGC AGC GT CAG TTC CAA AA A AAC GTA CTT C	Shaw et al. 2007 Shaw et al. 2007	x	x	x	x
	<i>ndhF-rpl32</i>	ndhF rpl32-R	GAA AGG TAT KAT CCA YGM ATA TT CCA ATA TCC CTT YYT TTT CCA A	Shaw et al. 2007 Shaw et al. 2007	x	x	x	x
	ITS1 + 5.8S + ITS2 ♦	ITS 5 ITS 4 ITS 2 ITS 3b	GGA AGT AGA AGT CGT AAC AAG G TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC GCT ACG TTC TTC ATC GAT GC GCA TCG ATG AAG AAC GTA GC	White et al. 1990 White et al. 1990 White et al. 1990 White et al. 1990	++	~ 735 pb	+	+++
	ETS ♦	18S-E ETS-R383	GCA GGA TCA ACC AGG TAG CA GGY GGT GCA TGA GTG GTG ATW YY	Baldwin & Markos 1998 Mouly com. pers.	++	~ 445 pb	+	+++
	EIWxy	Wxy_f Wxy_r	TAT AAG GAC GCA TGG GAT AC AAG AGA TGA GAG CGA TAG GGA AG	Garrick et al. 2008 Garrick et al. 2008	x	x	x	x
	EILfy	Lfy_f Lfy_r	ACG TGT CAA AAA GGT ACG GAC TGG TGA TAG AGG TGC AGA ACA TTG C	Garrick et al. 2008 Garrick et al. 2008	+	~ 316 pb	-	-
EIAdh	Adh_f Adh_r	AGA ATG CAG GGA ATG TGC TC ACT GTG TAC TCA CTG AAA GTG G	Garrick et al. 2008 Garrick et al. 2008	++	~ 165 pb	-	-	
EIPi	Pi_f Pi_r	AAG AGT CCT CAG CAT ACT TC TCT GGT GCC TTC TGA GGT AC	Garrick et al. 2008 Garrick et al. 2008	x	x	x	x	
EIRpb2	Rpb2_f Rpb2_r	TGG AGA CAA ATT CAG TAG TC AAT AAC CGA AGT TCC TAC CTC G	Garrick et al. 2008 Garrick et al. 2008	x	x	x	x	
EIMs	Ms_f Ms_r	TCAT GGT GAT TAC AGC TCA ATC C TGG AAA GCA GCA TAA TTA TGG TAG	Garrick et al. 2008 Garrick et al. 2008	x	x	x	x	
EIG3pdh	G3pdh_f G3pdh_r	TTC ATC TTT CCC TCA GAC TCC AGC TGC CAA GGT AGA AAT TGC ACG C	Garrick et al. 2008 Garrick et al. 2008	x	x	x	x	
Sqd1	Sqd1_f Sqd1_r	CTT GGG ACS ATG GGT GAR TAT GG CCW ACA GCA GCY TGM ACA CAC AAC C	Li et al. 2008 Li et al. 2008	+	~ 305 pb	-	-	
Cam	Cam33F Cam328R	CGA GTT CAA GGA GGC GTT CA ATG ACC AAC CTC GGC GAG AA	unpub. data unpub. data	x	x	x	x	
LFY	LFYf LFY5	CCA CGA CCG TTT ATG GTG AC CCA GAA CAT TGC CAA GGA GC	Haevermans com. pers. Oh & Potter 2003	multibande	x	x	x	
GBSSI	GBSSI_1F GBSSI_9R	CTG GTG GAC TCG GTG ATG TTC TTG G CTC TTC TAG CCT GCC AAT GAA CC	Evans et al. 2000 Evans et al. 2000	x	x	x	x	
G3pdh	GPDx7F GPDx9R GPD9R2 GPD9R4	GAT AGA TTT GGA ATT GTT GAG G AAG CAA TTC CAG CCT TGG CTT GAT TTC CTC ATA TGT TGC C TCC CTT AAG CTT ACC CTC AG	Strand et al. 1997 Strand et al. 1997 Olsen & Schaal 1999 Olsen & Schaal 1999	+	~ 685 pb	-	++	
PHYC	PHYC-F PHYC-R	CCA GCT ACT GAT ATA CCT CAA GCT TC CCA GCT TCC ATA AGG CTA TCA GTA CT	Samuel et al. 2005 Samuel et al. 2005	x	x	x	x	
ncpGS	GSKKf1 GSKKf2 GSKKr1 GSKKr2	GGC ACC AAT GGA GAG GTT AT GAT CAC ATC TGG TGT GCW AG AGC TTC AAT TCC CAC RCT GG YAA CAC CAG CYT GTT CWG TGA	Kulju et al. 2007 Kulju et al. 2007 Kulju et al. 2007 Kulju et al. 2007	+	~ 530 pb	-	++	
Adh	Adh1_P1 Adh1_P2	CTG CKG TKG CAT GGG ARG CAG GGA AGC C GCA CAG CCA CAC CCC AAC CCT G	Small & Wendel 2000 Small & Wendel 2000	multibande	x	x	x	
GPAT	GAF1 GAR1 GAFe5 GAR5	TTT GGY CAA AAT TAT ATT CGK CC CCA CCA CTK GGT GCA ATC CA CCC TGT TCT CTG GAA TGG AAG CAT GCT GAA TGG CTT GCA AAG	Tank & Sang 2001 Tank & Sang 2001 Tank & Sang 2001 Tank & Sang 2001	x	x	x	x	

Tableau II.2. Caractéristiques des régions d'ADN testées et utilisés dans le cadre de la thèse. Pour chaque région les caractéristiques suivantes sont fournies : le nom des amorces, la séquences des amorces (sens 5' – 3'), l'article de référence pour la publication des amorces (et du protocole d'amplification associé). En fonction des résultats obtenus après amplification ou séquençage, sont estimés : la qualité de l'amplification, la taille moyenne des contigs obtenus après séquençage des éventuelles amplicons, la qualité des séquences et la variabilité des séquences. **Codage qualitatif** : +++ (très bon) ; ++ (bon) ; + (moyen) ; - (mauvais) ; x (nul ou non-applicable). Les régions indiquées par le symbole ♦ sont celles qui ont servi aux analyses moléculaires.

Au final, l'échantillonnage sélectionné pour les analyses phylogénétiques se compose de 8 régions de l'ADN : 2 régions nucléaires (ITS et ETS) et 6 régions chloroplastiques (*matK*, *rbcL*, *ndhA*, *atpI-atpH*, *psbA-trnH* et *trnQ-5'rps16*) (Tableau II.2.).

Les analyses de barcoding ADN présentées dans ce travail de thèse se concentrent sur les 2 régions « officielles » *matK* et *rbcL* (CBOL Plant Working Group 2009). Certaines des 6 autres régions séquencées et tout particulièrement les régions ITS et *psbA-trnH* ont également été utilisées lors des travaux de thèse comme des marqueurs barcode.

3. Amplification, séquençage et édition des régions de l'ADN sélectionnées

De façon générale, les PCRs (*Polymerase Chain Reactions* en anglais ou Réactions en chaîne de polymérase en français) ont été effectuées dans un volume de réaction de 25µL contenant 15,75 µL d'eau distillée, 5 µL of Taq & Load Mastermix (MP Biomedicals Inc.), 0,75 µL of DMSO (1M), 1 µL de chaque primer (1 µM) et 1,5 µL d'aliquot d'ADN non quantifiés. Dans le cas où les aliquots d'ADN présentaient *a priori* une faible concentration en ADN, les quantités d'aliquots étaient augmentées.

Les protocoles de PCR utilisés pour l'amplification des régions de l'ADN sélectionné sont ceux indiqués par les auteurs ayant publié les amorces associées. Ne sont détaillés ici que les protocoles d'amplification des régions utilisées pour les analyses moléculaires (pour les protocoles des régions testées mais non utilisées, voir les publications des amorces dont les références sont indiquées dans le Tableau II.2.).

La totalité de la région ITS (ITS1, 5.8s et ITS2) a été amplifiée en utilisant le protocole suivant : 2 minutes de dénaturation initiale à 94°C, 30 cycles composés d'1 minute de dénaturation à 94°C, d'1 minute d'appariement à 52°C, et de 3 minutes d'extension à 72°C, suivi d'une extension finale de 7 minutes à 72°C. Pour la région ETS, ont été observées 4 minutes de dénaturation initiale à 94°C, 35 cycles composés de 30 secondes de dénaturation à 94°C, de 30 secondes d'appariement à 54°C, et de 30 secondes d'extension à 72°C, suivi d'une extension finale de 7 minutes à 72°C. Pour *matK*, les réactions de PCR ont été effectuées en suivant une dénaturation initiale de 2 minutes à 94°C, 32 cycles d'1 minute de dénaturation à 94°C, d'1 minute d'appariement à 53°C, et d'1.5 minute d'extension à 72°C, suivi d'une extension finale de 4 minutes à 72°C. La région *rbcL* a été amplifiée en effectuant une première dénaturation initiale d'1 minutes à 94°C, 35 cycles d'1 minute de dénaturation à 94°C, d'1 minute d'appariement à 48°C, et d'1.5 minute d'extension à 72°C, suivie d'une extension finale de 4 minutes à 72°C. Pour l'espaceur inter-génique *psbA-trnH* ont été

effectués 5 minutes de dénaturation initiale à 96°C, suivies de 34 cycles comprenant 1 minute de dénaturation à 96°C, 1 minute d'appariement à 52°C, et 30 secondes d'extension à 72°C, suivies enfin d'une extension finale de 5 minutes à 72°C. Les trois régions chloroplastiques *ndhA*, *atpI-atpH* et *trnQ-5'rps16* ont été amplifiées suivant le protocole suivant : 5 minutes de dénaturation initiale à 80°C, suivies de 30 cycles se composant chacun d'1 minute de dénaturation à 95°C, d'1 minute d'appariement à 50°C, suivi par un gradient de 0.3°C/s jusqu'à 65°C, température à laquelle sont programmées 4 minutes d'extension à 65°C ; le tout suivi enfin par 5 minutes d'extension finale à 65°C.

Les produits de PCR ont été vérifiés par migration sur gels d'agarose à 1%. Ceux qui présentaient une migration évidente ont été envoyés pour purification et séquençage au Centre National pour le Séquençage (Génoscope) à Evry, France. Pour le séquençage, ont été utilisées les mêmes amorces que pour les réactions de PCR, à l'exception des régions ITS et *rbcL* pour lesquelles une paire d'amorces intérieures a été utilisée (Tableau II.2.). Les séquences obtenues ont été assemblées et éditées manuellement en utilisant le logiciel Sequencher® 4.9 (Gene Codes Corp.).

4. Méthodes d'analyse

Dans un souci de confort de lecture, afin d'éviter au maximum les redondances et vu la diversité des méthodes qui ont été explorées pendant ce travail de thèse, le détail des analyses sera fourni ultérieurement, dans chacun des chapitres correspondant.

Partie 1.

Sur le concept d'espèces dans le genre
Euphorbia à Madagascar : Taxonomie
traditionnelle et barcoding ADN

Chapitre 3

Taxonomic revision of the Malagasy endemic and enigmatic *Euphorbia pachysantha* Baill. group (*in prep. pour publication dans Phytotaxa*)

X. Aubriot¹, P.P. Lowry II^{1,2}, T. Haevermans¹

Address(es):

¹ Muséum national d'histoire naturelle, Département Systématique et Evolution, UMR 7205 MNHN/CNRS Origine Structure et Evolution de la Biodiversité (OSEB), Herbar Plantes Vasculaires, CP 39, 57 rue Cuvier, 75231 Paris CEDEX 05, France.

² Missouri Botanical Garden, P.O. Box 299, St. Louis, Missouri 63166-0299, USA.

Corresponding author. E-mail: aubriot@mnhn.fr

Abstract

Among the broad literature related to Malagasy *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae, Malpighiales), some species remain poorly known and poorly documented and often dramatically undercollected; their descriptions stay vague and uncompleted. As part of an ongoing revision of the genus in Madagascar, an informal group of six Malagasy endemic species which show clear morphological affinities is herein revised. Former descriptions are amended, two new species (*Euphorbia 'haevermansii' ined.* and *Euphorbia 'nusbaumeri' ined.*) from the Daraina region of Madagascar are described and a key to these six species is provided. The species of this group are characterized by developed leaves, unarmed twigs (contrarily to a wide range of Malagasy *Euphorbia* species), leafy deciduous cyathophylls, indehiscent fruits and ecarunculate seeds. They differ in their geographical distribution, their general bearing, the shape and the size of their leaves, glands, cyathia and cyathophylls, as well as by fruit features. The morphological affinities of these six species are discussed and their preliminary conservation statuses are assigned.

ADDITIONAL KEY WORDS: *Euphorbia* L. – Madagascar – group of *E. pachysantha* – revision

Introduction

The genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae, Malpighiales) is a giant among flowering plants: it has a worldwide distribution and comprises about 2000 species and varieties (Haevermans 2003; Mabberley 2008). The island of Madagascar, with at least 170 taxa of *Euphorbia*, almost all endemic (Haevermans 2003), stands out as one of the main hotspots of the genus. Despite this remarkable diversity, the most recent global revision of the genus dates from the 19th century (Boissier 1862). Results from recent molecular phylogenetic analyses, based on both nuclear and chloroplast markers, have revealed many monophyletic groups and showed that traditional infrageneric systems of classification in large part fail to reflect evolutionary relationships (Steinmann & Porter 2002; Haevermans 2003; Bruyns et al. 2006; Zimmermann et al. 2010; Aubriot 2009 unpubl. data). These phylogenetic studies, however, provide a framework for undertaking an ongoing series of taxonomic revisions of well supported, monophyletic groups. The present paper focuses on a distinctive clade of endemic Malagasy *Euphorbia*, informally referred to as the “*E. pachysantha* group”. Poorly sampled in the above-mentioned phylogenetic studies, this clade nevertheless forms a coherent group, both morphologically and geographically. It comprises four described species of trees (viz. *E. mananarensis* Leandri, *E. mandravioky* Leandri, *E. pachysantha* Baill. and *E. pirahazo* Jum.) that share several features, including more or less pachycaul trunks, developed leaves, unarmed twigs, leafy deciduous cyathophylls, indehiscent fruits and ecarunculate seeds.

When Baillon described *Euphorbia pachysantha* in 1886, he placed it in the highly heterogeneous group *E.* section *Goniostema* Baillon. This section, typified by *E. lophogona* Lamarck (Wheeler 1943), initially included all Malagasy species with well developed leaves and thus resulted in a “catch-all” group. Boissier (1862, supplement in 1866) and Baillon himself (1886) expanded the section with the addition of numerous unarmed species (Table 1). Bentham & Hooker (1880) later reduced this group to subsectional rank, placing it within the typical section, and subsequently Denis (1921) added the newly discovered *E. pirahazo*. In the same paper, Denis proposed that four taxa with stipules forming lacinate ridges be transferred to subsect. *Diacanthium* (Boiss.) Bentham & Hooker, one of which was *E. lophogona*, the type of sect. *Goniostema*. As circumscribed by Bentham & Hooker, subsect. *Diacanthium* included all spiny *Euphorbia* from throughout the world. In 1945, Leandri, following Denis, excluded the species with stipules forming lacinate ridges and, without proposing a new name for the former subsect. *Goniostema* (Baillon) Bentham & Hooker, included in it the newly discovered *E. mananarensis*. Subsequently, Leandri (1957) formally

published a new subsectional name for the group: *E.* subsect. *Denisophorbia* Leandri, designating *E. pyrifolia* Lam. as the type. At the same time he described a new species, *E. mandravioky*, which was placed in the section.

<i>E.</i> sect. <i>Goniostema</i> Baill.	<i>E.</i> subsect. <i>Goniostema</i> (Baill.) Bentham & Hooker	<i>E.</i> subsect. <i>Denisophorbia</i> Leandri
<p>Baillon 1861</p> <p><i>E. lophogona</i> Lam. <i>E. boissieri</i> Baill.</p> <p>Boissier 1862-1866</p> <p><i>E. lophogona</i> Lam. <i>E. boissieri</i> Baill. <i>E. pyrifolia</i> Lam. <i>E. bovinifolia</i> Boiss. <i>E. physoclada</i> Boiss. <i>E. thoursiana</i> Baill. <i>E. adenopoda</i> Baill. <i>E. leuconeura</i> Boiss. <i>E. leuconeura</i> Boiss.</p> <p>Baillon 1866</p> <p><i>E. lophogona</i> Lam. <i>E. boissieri</i> Baill. <i>E. pyrifolia</i> Lam. <i>E. bovinifolia</i> Boiss. <i>E. physoclada</i> Boiss. <i>E. thoursiana</i> Baill. <i>E. adenopoda</i> Baill. <i>E. leuconeura</i> Boiss. <i>E. adenopoda</i> Boiss. <i>E. sapifolia</i> Baill. <i>E. aprica</i> Baill. <i>E. commersonii</i> Baill. <i>E. bakeriana</i> Baill. <i>E. mancinella</i> Baill. <i>E. betacea</i> Baill. <i>E. pachysantha</i> Baill. <i>E. tetraptera</i> Bak. <i>E. pervilleana</i> Baill. <i>E. splendens</i> Boj.</p>	<p>Denis 1921</p> <p><i>E. pyrifolia</i> Lam. <i>E. bovinifolia</i> Boiss. <i>E. physoclada</i> Boiss. <i>E. thoursiana</i> Baill. <i>E. adenopoda</i> Baill. (= <i>E. sapifolia</i> Baill.) <i>E. aprica</i> Baill. <i>E. commersonii</i> Baill. <i>E. bakeriana</i> Baill. <i>E. mancinella</i> Baill. <i>E. betacea</i> Baill. <i>E. pachysantha</i> Baill. <i>E. tetraptera</i> Bak. <i>E. pervilleana</i> Baill. <i>E. pirahazo</i> Jum. <i>E. antiso</i> Denis <i>E. hexadenia</i> Denis <i>E. daphnoides</i> Balf. f. <i>E. orthoclada</i> Bak. <i>E. obcordata</i> Denis <i>E. erythroxyloides</i> Bak. <i>E. splendens</i> Boj. <i>E. lophogona</i> Lam. <i>E. boissieri</i> Baill. <i>E. leuconeura</i> Boiss.</p> <p>Leandri 1945</p> <p><i>E. pyrifolia</i> Lam. <i>E. bovinifolia</i> Boiss. <i>E. physoclada</i> Boiss. <i>E. thoursiana</i> Baill. (= <i>E. commersonii</i> Baill.) <i>E. adenopoda</i> Baill. <i>E. aprica</i> Baill. <i>E. mancinella</i> Baill. <i>E. betacea</i> Baill. <i>E. pachysantha</i> Baill. <i>E. tetraptera</i> Bak. (= <i>E. bakeriana</i> Baill.) <i>E. pervilleana</i> Baill. <i>E. pirahazo</i> Jum. <i>E. antiso</i> Denis <i>E. hexadenia</i> Denis <i>E. orthoclada</i> Bak. <i>E. obcordata</i> Denis <i>E. erythroxyloides</i> Bak. <i>E. ellioti</i> Leandri (= <i>E. commersonii</i> Elliot) <i>E. mananarenensis</i> Leandri <i>E. zakamenae</i> Leandri <i>E. mangorensis</i> Leandri <i>E. decaryana</i> Croizat <i>E. rangovalensis</i> Leandri <i>E. ankaranae</i> Leandri <i>E. analameranae</i> Leandri</p>	<p>Leandri 1957</p> <p><i>E. pyrifolia</i> Lam. <i>E. bovinifolia</i> Boiss. <i>E. physoclada</i> Boiss. <i>E. thoursiana</i> Baill. <i>E. adenopoda</i> Baill. <i>E. aprica</i> Baill. <i>E. mancinella</i> Baill. <i>E. betacea</i> Baill. <i>E. pachysantha</i> Baill. <i>E. tetraptera</i> Bak. <i>E. pervilleana</i> Baill. <i>E. pirahazo</i> Jum. <i>E. antiso</i> Denis <i>E. hexadenia</i> Denis <i>E. orthoclada</i> Bak. <i>E. obcordata</i> Denis <i>E. erythroxyloides</i> Bak. <i>E. ellioti</i> Leandri = <i>E. commersonii</i> Elliot <i>E. mananarenensis</i> Leandri <i>E. zakamenae</i> Leandri <i>E. mangorensis</i> Leandri <i>E. decaryana</i> Croizat <i>E. rangovalensis</i> Leandri <i>E. ankaranae</i> Leandri <i>E. analameranae</i> Leandri <i>E. mandravioky</i> Leandri</p>

Table 1. Classification of the Malagasy species of the *Euphorbia pachysantha* group. Species in bold are the ones that have been incorporated by the corresponding author. Species in red are *E. pachysantha* group species. Species in blue are the species that were moved to subsect. *Diacanthium*.

In a recent phylogenetic study based on molecular sequence data, Bruyns et al. (2006) proposed a new infra-generic classification for *Euphorbia* in southern Africa in which they expanded sect. *Goniostema* to include all of the species formally placed in sects. *Goniostema*, *Diacanthium*, *Denisophorbia* and *Deuterocalli* Croizat. Several other studies have, however, shown that adopting such a broad circumscription results in a polyphyletic group (Steinmann & Porter 2002; Haevermans 2003). In particular, *E. pachysantha* and its relatives, none of which was included in the sampling used by Bruyns et al. (2006), show a close affinity to spiny Afro-Asian species and to the taxa heretofore placed in the genus *Monadenium* L. rather than to the other taxa assigned to the expanded sect. *Goniostema*.

Notwithstanding these taxonomical conflicts, we propose a complete revision of this group, which we recognize based on the fact that it forms a morphologically sound, coherent, monophyletic group (according to results from both published and unpublished molecular studies). The taxonomic revision presented here recognizes a total of six species, two of which are described as new. Each of the four previously described taxa was originally based on a very limited number of often fragmentary specimens, without illustrations or photos, and their protologues thus lacked clarity and accuracy. Using additional material collected during fieldwork in Madagascar conducted over the last decade, standardized and amended descriptions are provided for these four species, one of which, *E. pirahazo*, is also lectotypified. The two new species, both collected within the last few years in the Loky-Manambato (Daraina) region of northeastern Madagascar, are described and illustrated. All six members of *E. pachysantha* group are assigned a preliminary risk of extinction status using the IUCN Red List Categories and Criteria (IUCN 2001).

Material and Methods

Morphological measurements were made on exsiccatae and alcohol-preserved material available in the herbaria in Paris (P) and Geneva (G). When historical collections lacked geographic coordinates, post-facto georeferencing was done using the “Gazetteer to Malagasy Botanical Collecting Localities” (Schatz & Lescot 2005) and other sources. Preliminary assessment of conservation status were based on the calculations of the area of occupancy (AOO) and extent of occurrence (EOO) which were performed using the methods presented by Callmänder et al. (2007).

Digital images of all specimens in the Paris herbarium are available via the SONNERAT database (<http://www.mnhn.fr/base/sonnerat.html>) and images of the material in

the Geneva herbarium can be accessed through the *Catalogue des Herbiers de Genève* (<http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/chg/>).

Results

Circumscription and characterization of the group of Euphorbia pachysantha

Trees, 6–20 m tall; bark gray, smooth to wrinkled; trunk “bottle-shaped” and unbranched at the base (resembling *Adansonia* spp. — Malvaceae), stems succulent, grouped at the top; leaves spirally arranged toward the ends of the twigs, blade obovate to lanceolate, more or less shiny and succulent, apex acuminate to mucronate, sometimes retuse, petioles more or less developed with two small stipular glands at the base. Sexual system difficult to determine given the record of flowering stages is still fragmentary, but apparently most species are monoecious and the cyathia are functionally protandrous²⁰. Inflorescences sub-terminal, cyathia solitary or grouped by 2 to 4 at the ends of the twigs, cyathophylls 2, developed, leafy, deciduous, glands 5. Capsules dehiscent, erect or pendant, very variable in size, trilocular to unilocular by abortion, green when young, smooth to weakly wrinkled; 1- to 3-seeded, testa smooth, lacking a caruncle.

Identification key to species of Euphorbia pachysantha group

1. Small tree to 6 m tall, leaves small (2–3 × 1–2 cm), obovate, succulent; cyathia usually small (6–7 mm in diameter). Xeric bush, SE Madagascar (near Fort-Dauphin)
*E. mananarensis*
- Small tree to tree (3–30 m tall), leaves large (generally >5 cm long), shape variable, obovate to elliptic, more or less succulent; cyathia large (>8 mm in diameter). Deciduous or humid forest, north, west and east of Madagascar 2
2. Cyathium glands crescent-shaped, bearing appendages curved towards the cyathium, glands attached to the cyathium cup by a short stalk (2 mm long); cyathium divided into 5 units individualized by bracteoles; cyathium peduncle poorly developed (2–4 mm long); tree 3–6 m high, humid forests, eastern Madagascar*E. pachysantha*

²⁰ Le terme protandre est utilisé pour désigner, chez les fleurs hermaphrodites, le phénomène de maturité des organes mâles avant les organes femelles. Il s’applique donc aux anthères et aux stigmates. Le cyathium étant une forme intermédiaire entre une fleur hermaphrodite et une inflorescence (Prunner & Rudall 2007), il s’applique ici au développement des fleurs mâles avant la fleur femelle pour les cyathia bisexués.

- Cyathium glands circular to reniform, never crescent-shaped, directly inserted on the cyathium cup; cyathium peduncle well developed (0.6–1.5 cm long); tree 3–30 m in height. Deciduous and semi-deciduous forests of northern and western Madagascar..... 3

- 3. Leaves succulent; fruit unilocular or bilocular, large (2.5–4 cm in diameter), pendulous when ripe; cyathophylls inserted $\frac{3}{4}$ of the distance from the base of the peduncle; glands reniform, two times longer than wide; cyathia borne on a well developed peduncle (ca. 1–1.5 cm long). Deciduous forests, N Madagascar *E. mandravioky*

- Leaves slightly to not succulent; fruit unilocular to trilocular, never exceeding 2 cm in diameter when mature, erect when ripe; cyathophylls inserted at the base of the cyathia cup or at the base of the cyathia peduncles..... 4

- 4. Fruit bilocular, spherical, surface smooth, borne on a small peduncle (3 mm); bark thick, strongly desquamating (as in some species of genus *Prunus* L.); tree to 20(–30) m tall. Relictual forests, Ambongo plateau SE of Mahajanga (W Madagascar).....
.....*E. pirahazo*

- Fruit unilocular or trilocular, trigonous or spherical, surface smooth or sulcate, borne on a large peduncle (>1 cm); bark smooth; trees 6–11 m. Semi-deciduous forests, NE Madagascar 5

- 5 Fruits trilocular, trigonous, surface sulcate, solitary or borne in pairs, fruit ca. 2 cm in diameter when mature; leaves large (generally >7 cm long) *E. 'haevermansii' ined.*

- Fruits unilocular, spherical, surface smooth, usually 2 to 4 borne together, fruit ca. 1 cm in diameter when mature; leaves small (generally <6 cm long).....*E. 'nusbaumeri' ined.*

Euphorbia mananarensis Leandri (Figure 1)

Notulae Systematicae, **12**: 69 (1945).

Type:—MADAGASCAR. Vallée de la haute Mananara (limite orientale de l'Androy), pente gneissique, [24°49'S, 46°37'E], 25 November 1931, fl., *Decary 9413* (holotypus: P [P00078031]!; isotypus: P [P00078032]!, TAN [TAN000553]!).

Small tree to 6 m tall, monoecious, pachycaulous, trunk rounded at the base, to 40 cm in diameter, unbranched at the base; bark brown, slightly wrinkled; branches slender, small, pseudodichotomous, with blackish bark. Abundant white latex present in all organs. Leaves simple, alternate, grouped at the ends of the twigs, blade shiny, light-green abaxially, dark-green adaxially, thick, fleshy, elliptic to obovate, (0.9–)2–3(–4.3) × (0.8–)1–1.5(–2.3) cm, glabrous, primary and secondary veins forming light green dots, inconspicuous, secondary veins ca. 3 to 6 per side, base attenuate, margin entire, minutely revolute, apex wide and usually almost flat, acumen more or less developed (rarely absent); petiole very short (1–5 mm long) to absent (leaves sessile), light-green to white, glabrous; stipules 2, minute, gland-like.

Cyathia pseudoterminal, solitary, functionally protandrous, cupuliform to obconical, (0.4–)0.6–0.7(–0.8) cm in diameter when dry (including the glands), glabrous. Cyathia at the male phase borne on peduncles 2–4 mm long; cyathophylls not present at this phase (undeveloped). Glands 5, fleshy, contiguous, almost as long as wide (4 × 3 mm), reniform to ovate, glabrous, gland margins smooth, revolute. Interglandular bracts 5, as long as wide (2 × 2 mm), orbicular, glabrous, with filamentous margins; staminate flowers numerous, divided into 5 clearly distinguishable cymes, borne on pedicels 2 mm long, filaments thick, very small, 0.5 mm long, anthers 1 mm in diameter; staminate flowers weakly exerted from the cyathium cup at maturity, hyaline bracteoles numerous, united to the base of the staminate flowers, very filamentous, lingulate. Cyathia at the female phase borne on a peduncle (4.5–)6–7(–8.5) mm long; cyathophylls 2, deciduous, glabrous, lingulate, 5 × 3 mm, inserted $\frac{3}{4}$ of the distance from the base of the peduncle, subopposite (<0.5 mm from one another); pistillate flower erect, located in the center of the cyathium, bicarpellate, glabrous, stigmas 2, bifid, brown.

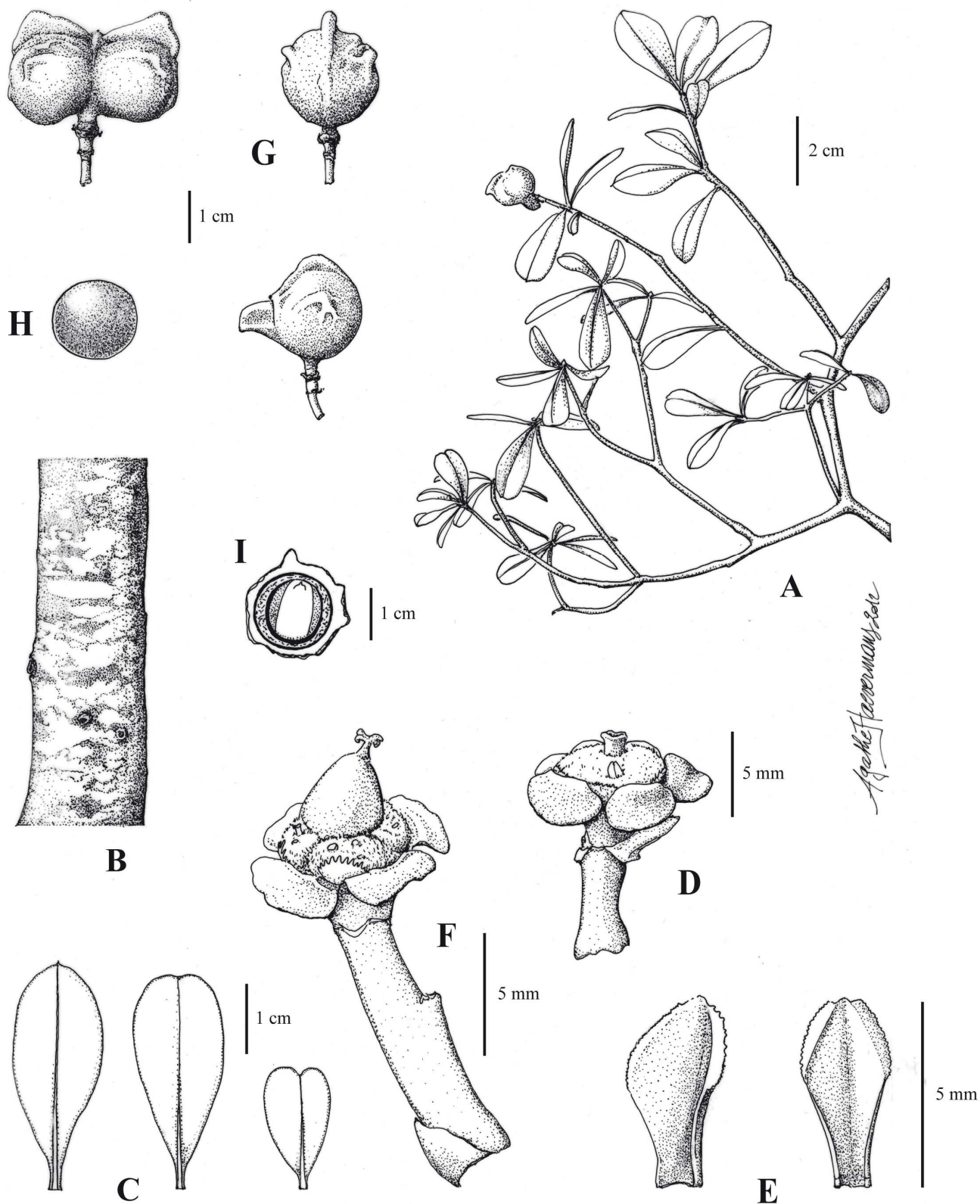
Mature fruit solitary, erect, borne on peduncle 0.7–1 cm long, green when fresh, usually unilocular (sometimes bilocular), comprising a large globular lobe 1.3–1.6 cm in diameter when dry and an aborted lobe, conical to hemispherical, <7 mm high; fruit hard, exocarp

smooth, glabrous, covered by more or less prominent wrinkles, a sclerotic crest visible in longitudinal section. Seed 1, globular, smooth, brown, glabrous, 1.4 cm in diameter.

Distribution and ecology: — *Euphorbia mananarensis* grows in xeric bush in southeastern Madagascar, near Fort-Dauphin (Tolagnaro). 100–900 m.

Additional specimens examined: — MADAGASCAR. Flanc de colline, dans la forêt sèche, à 32 km au nord-est d'Amboasary, 24°53'15"S, 46°39'24"E, 457 m, 29 November 2009, fr., *Aubriot et al. 55* (MO, P, TAN, UMICH); Sud-Ouest: Crête et flanc Sud-Est du massif du Vohimena, au S.W. d'Antamimora, [24°52'S, 45°32'E], 5 July 1958, fl., *Capuron 18692-SF* (P); Toliara: Préfecture de Fort-Dauphin; forêt sèche de Vinanibe; bush, [25°3'20"S, 46°52'12"E], 100 m, 17 October 1990, fl., *Dumetz 1303* (MO, P, TAN); Vallée de la Manambolo, rive droite (Bassin du Mandrare) aux environs d'Isomonony (confluent de la Sakamalio), [24°31'S, 46°37'E], 400–900 m, December 1933, fr., *Humbert 13072* (P); Fort-Dauphin, Ambatoabo, Savoia, 2,5 km est d'Imonty, 24°47'48"S, 46°42'16"E, 200 m, 27 November 2009, fr., *Ratovoson 1548* (MO, P, TAN).

Conservation status: — *Euphorbia mananarensis* has an Extent of Occurrence (EOO) of ca. 3770 km², an Area of Occupancy (AOO) of ca. 54 km², and is known from six locations (only one of which occurs within a protected area, Andohahela National Park), which form six separated subpopulations. Consequently, we have assigned *E. mananarensis* a preliminary status of Endangered (EN B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii)) based on the IUCN Red List Categories and Criteria (IUCN, 2001).



Euphorbia mananarensis

Figure 1 *Euphorbia mananarensis*. A. Habit. B. Bark. C. Leaves. D. Detail of a cyathium. E. Cyathophylls. F. Young female flower. G. Fruits. H. Seed. I. Section of the fruit and the seed. A, B, C, G, H, I. Aubriot *et al.* 55 (MO, P, TAN, UMICH). D, F, E. Capuron 18692-SF (P).

***Euphorbia pachysantha* Baill.**

Bulletin Mensuel de la Société Linnéenne de Paris, **1**: 624 (1886).

Type:— MADAGASCAR. Central Madagascar, *Baron 4437* (holotypus: K [K000185237]!; isotypus: P [P00078061]!, [P00078062]!, [P00078063]!)

Euphorbia monocephala Baker ex Denis, *Les Euphorbiées des Iles Australes d'Afrique*, 43 (1921), pro syn.

Small tree to tree, 3–6(–15) m tall, monoecious, deciduous, pachycaulous, trunk to 50 cm in diameter, unbranched at the base; bark smooth; secondary branches slender and numerous, forming a crown at the top of the trunk, young branches rounded, greenish-brown. White latex present in all organs. Leaves, simple, alternate, grouped at the ends of the twigs, light green abaxially, blade dark green to glaucous adaxially, thin, usually lanceolate to elliptic (very variable), always 2–3 times longer than wide, (4–)6–10(–14) × 2–3.5(–5) cm, glabrous, primary vein light green, well impressed adaxially, secondary veins light green, numerous, usually almost perpendicular to the primary vein, base attenuate, margin entire, thickened, apex strongly acuminate, rarely retuse; petiole (0.5–)1–1.5(–2) cm long, light-green, glabrous; stipules, 2, gland-like.

Cyathia pseudoterminal, usually solitary, sometimes 2 or 3 grouped at the top of the fertile twigs, protandrous functionally, broadly obconical, 0.8–1 cm in diameter when dry (including the glands), glabrous, borne on peduncles 2–4 mm long; cyathophylls 2 to 4, whitish-green, deciduous, glabrous, elliptic to obovate, very variable in size, inserted at the base of the cyathia peduncle. Glands (4 or) 5, borne on a short stalk (2 × 2 mm), fleshy, not touching one another, 3.5–5 × 1 mm (dry and without including the stalk), crescent-shaped, with appendices curved towards the cyathium, gland margins smooth. Interglandular bracts 5, curved towards the cyathium cup, as long as wide (about 2 × 2 mm), circular, glabrous, greenish-yellow, fimbriate on the upper side. Staminate flowers numerous, divided into 5 cymes subtended and covered by inter-glandular bracts; cymes separated completely from one another by by one (or more) encircling bracteoles. Staminate flowers well exerted from the cyathia cups at maturity, borne on a pedicel 2 mm long, filaments thin, 2 mm long, anthers < 1 mm in diameter. Pistillate flower erect, in the center of the cyathium, tricarpellate, stigmas 3, short, thin, recurved and brown.

Mature fruit solitary, erect, glabrous, smooth. Fruit uni- or bilocular, with an evident globular lobe 1.4 cm in diameter when dry and a smaller aborted lobe, hemispherical, less than 7 mm in diameter. Seeds unknown.

Distribution and ecology: — *Euphorbia pachysantha* grows on soils derived from gneiss in humid forests and ravines of eastern Madagascar, in the vicinity of Lac Alaotra, near Toamasina, and south of Vatomandry. 400–800 m.

Additional specimens examined: — MADAGASCAR. Centre: escarpement rocheux de la Mandraka, à la sortie des gorges (P.K. 70 de la route de Tananarive à Moramanga), [18°54'60"S, 47°50'5"E], 8 November 1957, fl. fr., *Capuron 18409-SF* (P); Menaloha (MEN-154), District d'Ambatondrazaka, [17°44'S, 48°28'E], September 1938, fl. fr., *Cours 770* (P); Pentes à l'Est du lac Alaotra, [17°33'25"S, 48°33'56"E], 800 m, October 1937, fl., *Humbert 17573* (P); Anosivola (Manjobo) [Nosivolo (Mangoro)], [20°3'S, 48°8'E], 700 m, November 1911, fl. fr., *Perrier de la Bathie 9658* (P); Mananjary, [21°14'18"S, 48°19'3"E], 400 m, December 1911, fr., *Perrier de la Bathie 9689* (P); Forêt orientale, près de Sevazy au SW de Vatomandry, [19°39'45"S, 48°31'59"E], December 1921, fl., *Perrier de la Bathie 14160* (P).

Conservation status: — *Euphorbia pachysantha* has an Extent of Occurrence (EOO) of around 16100 km², an Area of Occupancy (AOO) of ca. 54 km², and is known from six localities comprising as many severely fragmented sub-populations (none of which occurs within a protected area). This species has not been collected in 50 years. Consequently, we assigned *E. pachysantha* a preliminary status of Endangered (EN B2ab(i,ii,iii)) based on the IUCN Red List Categories and Criteria (IUCN, 2001).

Notes: — Considering that Rauh (1996) recently furnished detailed pictures of a living specimen of *Euphorbia pachysantha*, a scientific drawing would not have brought any new information so we have therefore chosen not to provide one.

Euphorbia mandravioky Leandri (Figure 2)

Bulletin de la Société Botanique de France, **104**: 499 (1957).

Type:—MADAGASCAR. Ouest (Nord) Plateau de l'Ankarana: sur les calcaires, aux environs d'Ambondromifehy, [15°53'S, 49°13'E], 4 October 1954, fl., *Service Forestier 11254-SF* (holotypus: P [P00078036]!; isotypus: P! [P00078037]!, [P00078038]!).

= *Euphorbia capuronii* Leandri *Bulletin de la Société Botanique de France*, **103**: 608 (1956), nom. inval., non *E. capuronii* Ursch & Leandri (1954). – Type:—MADAGASCAR. Ouest (Nord) Plateau de l'Ankarana: sur les calcaires, aux environs d'Ambondromifehy, [15°53'S, 49°13'E], 4 October 1954, fl., *Service Forestier 11254-SF* (holotypus: P [P00078036]!; isotypus: P! [P00078037]!, [P00078038]!)

Tree, 12 to 20 m tall, monoecious, deciduous, pachycaulous, trunk straight, rounded at the base, similar to *Adansonia* L. trunk, to 1 m in diameter at the base, unbranched at the base, weakly branched at the top; bark grey, smooth, with big corky lenticels >2 cm in diameter, lenticels sometimes contiguous, forming transversal wrinkles round the trunk. White latex present in all organs. Leaves simple, alternate, usually grouped spirally at the end of the twigs, blade light-green abaxially, shiny-green adaxially, thick, fleshy, obovate to obcordate, about twice longer than wider, (3.6–)5.8–7.5(–9.6) × (1.9–)3.2–4.1(–5) cm, glabrous, primary vein and secondary veins inconspicuous, primary vein weakly impressed adaxially, secondary veins ca. 7 per side, base attenuate, margin entire, smoothly revolute, apex wide, strongly acuminate or retuse; petioles 1(–1.5) cm long, light-green to white, glabrous; stipules 2, gland-like (0.5 mm in diameter).

Cyathia pseudoterminal, solitary or 2 grouped, functionally protandrous, cupuliform to obconical with a widely opened base, 0.7–0.8(–1) cm in diameter when dry (including the glands), glabrous, borne on peduncles (1–)1.3–1.5 cm long; cyathophylls 2, deciduous, glabrous, spatulate, 6 × 3 mm, inserted $\frac{3}{4}$ of the distance from the base of the peduncles, subopposite (ca. 1 mm. from one another) Glands 5, fleshy, thick, contiguous, in general twice longer than wide, 3–6 × 1.5–3 mm, truly reniform, strongly bilabiate, glabrous, glands margins undulate, slightly revolute, with small appendices curved towards the cyathium cup. Interglandular bracts 5, straight, almost as long as wide (3 × 2 mm), orbicular to spatulate, margins fimbriate. Staminate flowers numerous, divided into 5 clearly distinguishable cymes, separated by a net of small hyaline bracteoles. Staminate flowers weakly exerted from the

cyathia cup at maturity, borne on a pedicel 4 mm long, filaments thick, small, 1 mm long, anther 1 mm in diameter. Pistillate flower erect, in the centre of the cyathium, bicarpellate, glabrous, stigmas 2, bifid, brown.

Mature fruit solitary, pendulous, borne on peduncle 1.7–2 cm long, green when fresh, unilocular or bilocular, globular, 2.5–4 cm of diameter when dry, coriaceous, exocarp slightly wrinkled, glabrous, with prominent longitudinal ridges. Seeds 1, ovoid, smooth, brown, glabrous, 3 x 2.5 cm.

Distribution and ecology: — Tropophytic and semi-deciduous forests of northern Madagascar (calcareous plateau of the Ankarana reserve, Montagne des Français near Diego Suarez, Daraina region). 50–600 m.

Additional specimens examined: — MADAGASCAR. Forêt de Bekaraoka, près du Camp Tattersalli, à 6 km au nord-est de Daraina, 13°10'00"S, 49°42'26"E, 185 m, 14 May 2010, st., *Aubriot et al. 107* (MO, P, TAN) and *Aubriot et al. 108* (P, TAN); Montagne des français, à 8 km au sud-est de Antsiranana (Diego-Suarez), 12°22'33"S, 49°20'27"E, 376 m, 20 May 2010, *Aubriot et al. 134* (G, P, TAN); Antsiranana, sous préfecture de Vohemar, commune rurale de Daraina, fokontany d'Ankijabe. Forêt de Binara, camp I, 13°15'S, 49°37'E, 500 m, 6 November 2001, fr., *Gautier & Ravelonarivo 4078* (P); Antsiranana II, Ramena, Andavakoera. Forêt sèche sur tsingy, 12°20'25"S, 49°21'11"E, 233 m, 19 February 2007, fr., *Guittou et al. 324* (CNARP, MO, P, TAN); Province de Diégo-Suarez [*sic*], montagne d'Ambre, ferme vétérinaire de Normandie, [dubious locality], 16 September 1944, st., *Homolle 425* (P); Collines et plateaux calcaires de l'Ankarana (province de Diego-Suarez), [12°53'40"S, 49°11'18"E], December 1937–January 1938, st., *Humbert 18919 bis* (P); Plateau calcaire de l'Ankarana du Nord entre Ambilobe et Anivorano, [12°52'10"S, 49°13'43"E], 200–350 m, 4–9 March 1951, fl., *Humbert 25539 bis* (P); Collines et plateaux calcaires de l'Ankarana du nord, [12°50'32"S, 49°14'38"E], 30–350 m, 24 January 1960, st., *Humbert 32456* (P); SAVA, Daraina, village plus proche Tsaratanana, forêt d'Ampondrabe à 3 km au Nord de Tsaratanana, 12°57'42"S, 49°42'19"E, 23 September 2007, fl. fr., *Randrianaivo 1483* (CNARP, MO, P, TAN); Montagne des Français, forêt d'Antaolanaomby. Forêt sèche, 12°22'25"S, 48°21'11"E, 385 m, 22 March 2007, fr., *Ratovoson 1244* (CNARP, MO, P, TAN); Ramena, Andavakoera, forêt d'Andranonakomba, à 4 km au Sud-est d'Andavakoera, 12°21'03"S, 49°21'29"E, 50 m, 5 December 2007, fr., *Ratovoson et al. 1435* (CNARP, MO, P, TAN); Anstiranana. Ramena, Montagne des français, partie Andavakoera,

12°20'44"S, 49°21'9"E, 214 m, 13 August 2004, fr., *Razafitsalama et al.* 628 (CNARP, MO, P, TAN); Pic des Orchidées, village le plus proche : Andranomanity, canton de Mahavanona, [12°22'12"S, 49°21'E], 600 m, 13 September 1963, *Service des Eaux et Forêts 718R64* (P).

Conservation status: — With an Extent of Occurrence (EOO) of ca. 2850 km², an Area of Occupancy (AOO) of ca. 90 km², and five severely fragmented subpopulations (two of which occur within Loky Manambato protected area), *Euphorbia mandravioky* is assigned a preliminary status of Endangered (EN B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii)) based on the IUCN Red List Categories and Criteria (IUCN, 2011).

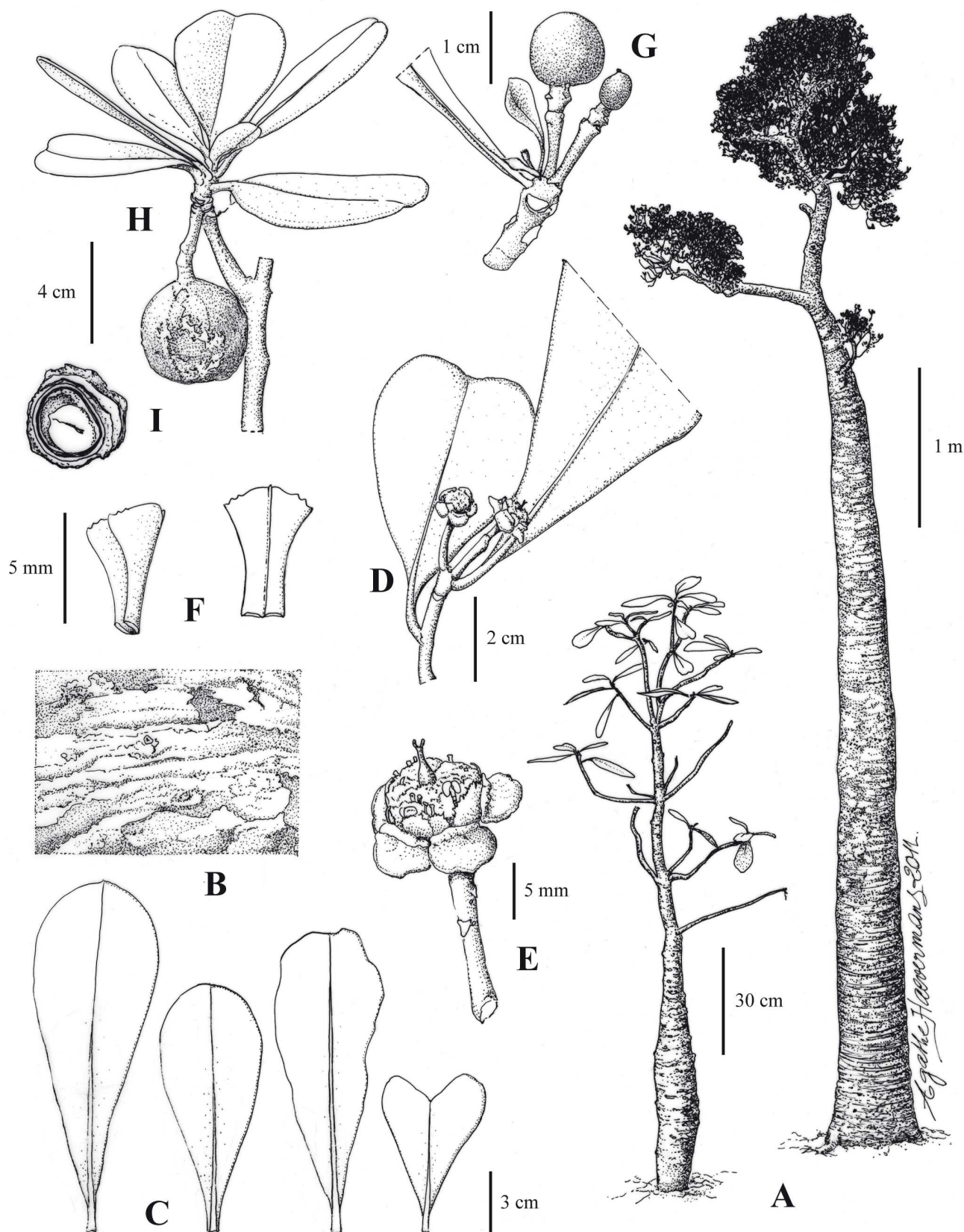


Figure 2 *Euphorbia mandravioky*. A. Habit. B. Bark. C. Leaves. D. Detail of a fertile branch showing two terminal cyathia without cyathophylls. E. Detail of a cyathium. F. Cyathophylls. G. Young fruits. H. Mature fruit. I. Section of the fruit and the seed. A. Aubriot *et al.* 134 (G, P, TAN) and Aubriot *et al.* 108 (P, TAN). B., C. Aubriot *et al.* 107 (MO, P, TAN). D, E, F. Service Forestier 11254-SF (P). G. Razafitsalama *et al.* 628 (CNARP, MO, P, TAN) H, I. Ratovoson 1244 (CNARP, MO, P, TAN).

Euphorbia pirahazo* Jum. (Figure 3)La Caoutchouc et la Gutta-Percha*, **3**: 207 (1905b)

Type:— MADAGASCAR. Environs d'Antsirabe près Andranomavo (Ambongo), [16°50'S, 45°39'59''E], November 1904, fl., without collector [Perrier de la Bathie] (syntypus: K [K000185254]!, P [P00169658]!, [P00169657]!, [P00751346]!)²¹

= *Euphorbia elastica* Jumelle, *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris* (1905a), nom. inval., non *E. elastica* Poisson & Pax (1902). - Type:— MADAGASCAR. Environs d'Antsirabe près Andranomavo (Ambongo), [16°50'S, 45°39'59''E], November 1904, fl., without collector [Perrier de la Bathie] (syntypus: K [K000185254]!, P [P00169658]!, [P00169657]!, [P00751346]!)

Tree, 10 to 20(–30) m tall, sexuality difficult to determine, deciduous, pachycaulous, trunk straight, rounded at the base, to 20(–60) cm in diameter, unbranched at the base, weakly branched at the top; bark grey, rolled into cylinders like *Prunus* L., with big corky lenticels of 0.8 to 2 cm in diameter ; secondary branches slender, small. White latex present in all organs, having the consistence of rubber at the base of the trunk. Leaves simple, alternate, grouped at the tips of the twigs, obovate to spatulate, (7–)8–10(–11) × 4–5 cm, glabrous, primary vein well impressed adaxially, secondary veins numerous, base attenuate, margin entire, apex wide, strongly acuminate to mucronate; petioles 1(–1.5) cm long, glabrous; stipules 2, gland-like.

Sexuality difficult to determine with the existing material. Cyathia pseudoterminal, solitary or 2 or 3 grouped at the top of the twigs, cupuliform, 1 cm in diameter when dry (including the glands), glabrous. Male cyathia borne on peduncle 6 mm long; cyathophylls 2, deciduous, glabrous, spatulate to obovate, 1.5–2 × 0.9–1.1 cm, apex mucronate, inserted at the base of the peduncle, Glands 5, fleshy, contiguous, almost twice longer than wide (5–6 × 2.5–3.5 mm), elliptic, strongly bilabiate, glabrous, glands margins minutely fimbriate. Interglandular bracts 5, straight, orbicular (3 × 3 mm), greenish-yellow, with deeply lacinate margins. Staminate flowers numerous, borne on pedicels 3–8 mm long, filaments very small to absent, anthers 1 mm in diameter; bracteoles hyaline, numerous, filamentous, lingulate.

Female cyathia smaller than the male ones, 4.5–7 mm diameter (dry and including the glands), borne on peduncle 3 mm long; cyathophylls apparently deciduous. Glands 5, 2 × 2 mm, with thick rolled ridges. Pistillate flower not seen.

²¹ Un lectotype sera désigné lors de la publication.

Young fruit solitary, erect, borne on peduncle 3 mm long, bilocular, globular, 1–1.5 cm of diameter, stigmas 2, persistent and recurved at the top, exocarp smooth, glabrous, covered by more or less prominent wrinkles. Fruit aborted and seeds unknown.

Distribution and ecology: — Not seen in the wild since 1910; known only from Perrier de la Bâthie's two collections made in 1905 and 1910, from relict forests of the High Plateau near Adranomavo (between 50 and 600 altitude meters), in the vicinity of Antsirabe (southeast of Mahajanga), in northwestern Madagascar.

Additional specimens examined: — MADAGASCAR. Ankissompo[b?]e près d'Ambatonhikina (Bermarivo) [unreadable and unobtainable locality], October 1910, fr., *Perrier de la Bathie* 9756 (P).

Conservation status: — This species was collected only once in 1910, since the type collection was made in 1905, and it may have gone extinct since then as a result of habitat loss and/or other threats, as indicated by E. P. B. de Perrier de la Bâthie on the label accompanying the type specimen. *Euphorbia pirahazo* cannot, however, be presumed to be extinct because the region of the type locality is poorly known and no recent survey work has been conducted. Images available from sources such as Google Earth indicate that this region is highly degraded, which suggests that any remaining population of *E. pirahazo* is likely to be very small. For these reasons it is assigned a preliminary status of Critically Endangered (CR B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii) based on the IUCN Red List Categories and Criteria (IUCN, 2011). Considering the above statements, the chances of rediscovering a population is extremely low and the species may have already gone extinct. In order to give a better picture of recent extinction events in Madagascar and to encourage conservation efforts we follow the recommendations of Butchart and colleagues (2006) by placing it in a informal category, Critically Endangered (Possibly Extinct) (CR (PE)).

Notes: — In the protologue of *Euphorbia pirahazo*, Jumelle (1905b) describes the female flowers of the cyathia as tricarpellate with 3 styles and a 3-locular ovary. However, none of the available material appears to have any female flowers. Considering that the fruits bear two stigmas, it seems unlikely that the ovary is tricarpellate and we have therefore not indicated this in the description provided above.

Nomenclatural notes: — The first name published based on material assigned to this species, dating from 1905, was *Euphorbia elastica* Jum., a later homonym of a West African species described three years earlier Poisson & Pax (1902). Jumelle (1905b) quickly realized his error and republished his description, using the name *E. pirahazo*. Jumelle's two publications mention the month when the species was discovered (May 1903) but provide no information on the exact collection date. Perrier de la Bâthie is acknowledged as the collector. Only three gatherings of this species are known. One is located at Kew (K), without collection date and collector name, is labelled '*E. elastica* Jum.' and was sent to Kew by Jumelle. The two others, deposited at P and bearing name '*E. pirahazo* Jum.', collected by Perrier de la Bâthie in November 1904 (coll. no. 1664, P00169657) and December 1910 (coll. no. 9756, P00078078). The Kew specimen is thus the only one bearing a label mentioning the name *E. elastica*, which appears to have been written by Jumelle himself. The specimens at P do not bear the name *E. elastica* and the only information in Jumelle's hand is a note on the label of Perrier 1664 indicating that a duplicate was sent to Kew. Considering the above facts, it seems reasonable to regard the Kew specimen and the two Paris duplicates of Perrier de la Bâthie 1904 collections as syntypes. The lectotypification will be addressed in the published manuscript²²

²² According to McNeill et al. (2006: Art. 9 Rec. 9.A.3.), it seems reasonable to regard the Kew specimen as the lectotype of *E. elastica*, as it is likely a duplicate of Perrier 1664. The most conservative approach would be to consider the Kew specimen as a duplicate belonging to the same gathering as Perrier 1664, this making 1904 Paris specimen isolectotype.

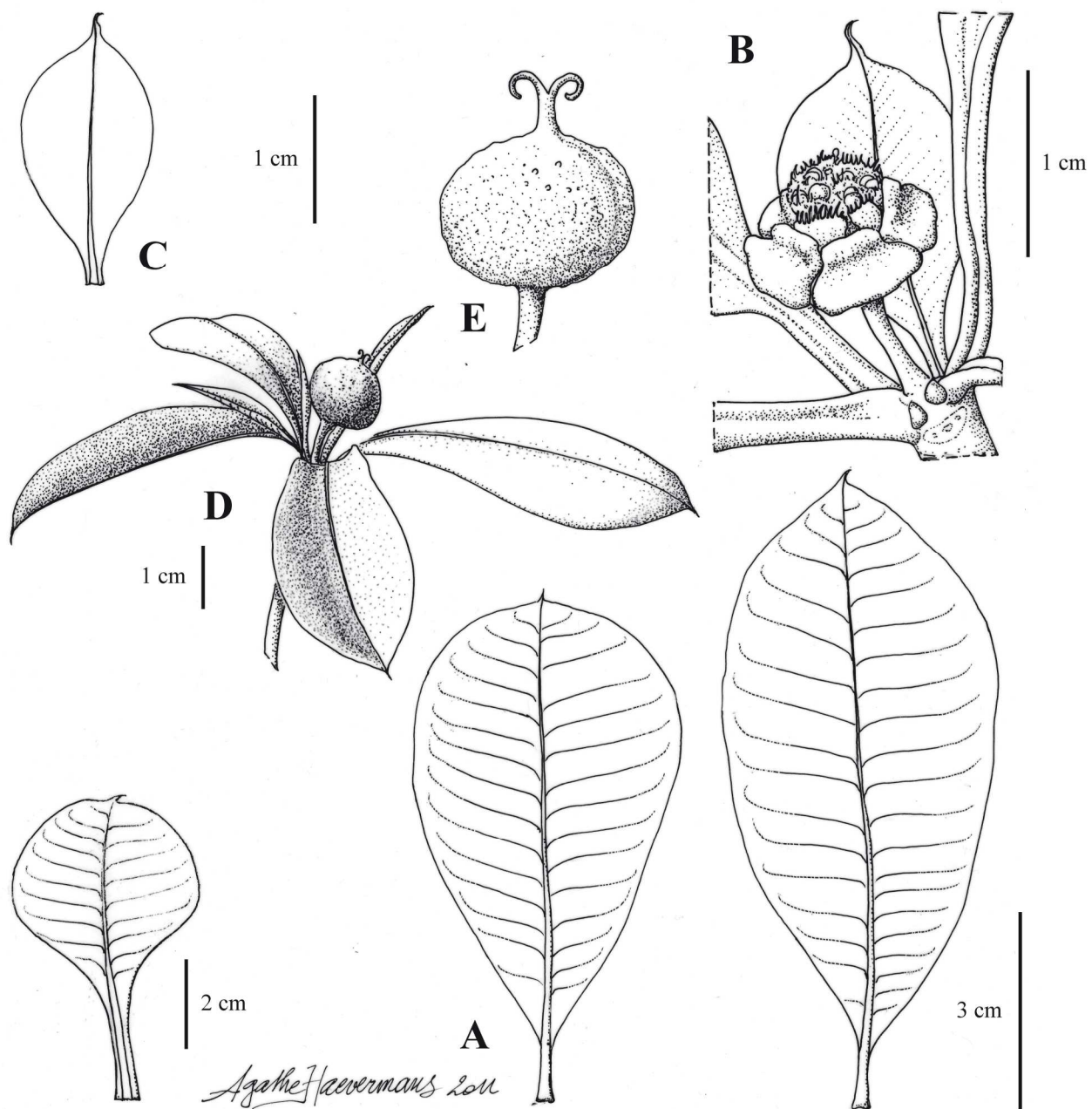


Figure 3 *Euphorbia pirahazo*. A. Leaves. B. Detail of a terminal cyathium. C. Cyathophyll. D. Detail of a fertile branch showing a terminal young fruit. E. Young fruit. A, B, C. *Perrier de la Bathie* 1664 (K, P). D, E. *Perrier de la Bathie* 9756 (P).

Euphorbia 'haevermansii' X. Aubriot & Lowry, *spec. nov., ined.*²³ (Figure 4)

Type:—MADAGASCAR. Province de Diego-Suarez/Antsiranana, sous-préfecture de Vohemar, commune rurale de Daraina, forêt d'Ankaramy, 13°18'S, 49°40'E, 640 m, 19 December 2005, fl., *Ranirison & Nusbaumer PR 1035* (holotypus: P [P00078032]!; isotypus: G [G00090464]!)

Small tree to tree, to 11 m tall, sexuality difficult to determine; trunk to 14 cm in diameter at the base, unbranched at the base; bark smooth, lenticled; secondary branches slender and numerous, in crown at the ends of the twigs, young branches rounded, green. White latex present in all organs. Leaves simple, alternate, grouped at the ends of the twigs, blade shiny, light green abaxially, dark green adaxially, fleshy, obovate to spatulate, about twice longer than wide, (5–)7–8(–11) × 3–4 (–5) cm, glabrous, primary vein light-green, well impressed adaxially, secondary veins numerous, inconspicuous, base attenuate, margin entire, smoothly revolute, apex finely acuminate to mucronate; petiole (1–)1.5–1.7(–2) cm long, light green, glabrous; stipules 2, gland-like.

Sexuality difficult to determine with the existing material. Cyathia pseudoterminal, solitary, less often in pairs, obconical and broadly spreading, 1 cm in diameter when dry (including the glands), glabrous. Male cyathia borne on weakly developed peduncles 4 mm long; cyathophylls 2, deciduous, glabrous, spatulate, 1 × 0.5–0.7 cm, apex mucronate, inserted at the base of the peduncle, borne on petioles 5 mm long. Glands 5, fleshy, thick, contiguous, 5 × 3 mm, elliptic to reniform, slightly bilabiate, outstretched, glabrous; surface light green, softly dotted; margin yellow-green, thickened, slightly revolute. Interglandular bracts 5, straight, orbicular (3 × 3 mm), glabrous, green, margin lacinate. Staminate flowers numerous, divided into 5 cymes, surrounded by a network of bracteoles numerous, filamentous, lingulate, hyaline. Staminate flowers well exerted from the cyathia cup at maturity, borne on a pedicel 6 mm long, filaments thin, 3 mm long, anthers light green, 0.5 mm in diameter. Female cyathia solitary or in pairs, borne on peduncles 1.2 cm long; cyathophylls 2, deciduous, inserted at the base of the cup. Female flower unseen.

Mature fruits 1–2 at the ends of the fertile twigs, erect, borne on peduncle green, ribbed, 1.2 cm long; fruit green when fresh, trilocular, trigone, sulcate, glabrous, 2 cm in diameter,

²³ Nous n'avons pas l'intention de publier ces deux espèces nouvelles dans le cadre de ce travail de thèse. Elles seront publiées ultérieurement et les noms des deux espèces nouvelles sont donnés entre guillemets.

stigmas 3, persistent, straight, crowning the fruit. Seeds 3, trigone, 1.2×1.2 cm, 2-lobed with a remaining hile at maturity, testa smooth, brown and glabrous.

Etymology: — This new species is named in honor of Thomas Haevermans as mark of recognition of his invaluable contribution to improving our understanding of Malagasy *Euphorbia*. Thomas's studies have opened the way for developing a much improved classification of the group, and his research has been important in strengthening our understanding of the processes responsible for plants diversification in Madagascar.

Distribution and ecology: — Tropicophytic semideciduous forests in the Daraina region of northeastern Madagascar. 600–700m.

Additional specimens examined: — MADAGASCAR. Province de Diego-Suarez/Antsiranana, sous-préfecture de Vohemar, commune rurale de Daraina, forêt de Binara, $13^{\circ}15'S$, $49^{\circ}37'E$, 715 m, 21 December 2003, fr., *Nusbaumer LN 865* (G); Province de Diego-Suarez/Antsiranana, sous-préfecture de Vohemar, commune rurale de Daraina, forêt d'Ankaramy, $13^{\circ}18'S$, $49^{\circ}40'E$, 23 February 2004, fr., *Ranirison & Nusbaumer PR 464* (G); Antsiranana. Ambilobe, Betsiaka, forêt d'Andavakoera, 8 km au Nord de Betsiaka, Dilan'Antemoro, $13^{\circ}7'47''S$, $49^{\circ}13'42''E$, 508 m, 11 January 2006, fl., *Razafitsalama et al. 900* (CNARP, MO, P, TAN).

Conservation status: — *Euphorbia 'haevermansii' ined.* has an Extent of Occurrence (EOO) of ca. 20 km², an Area of Occupancy (AOO) around 30 km², and is known from three localities, comprising three adjacent subpopulations (two of which occur within the Loky Manambato protected area). Consequently, we assign *Euphorbia 'haevermansii' ined.* a preliminary status of Endangered (EN B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii)) based on the IUCN Red List Categories and Criteria (IUCN, 2011).

Notes: — *Euphorbia 'haevermansii' ined.* closely resembles to *E. pachysantha* and *E. pirahazo*. However, it differs from *E. pirahazo* by several morphological characters. *Euphorbia 'haevermansii' ined.* is a small tree (up to ca. 10 m tall) with a smooth bark and trilocular fruits, whereas *E. pirahazo* is a large tree (20 m tall) with the bark rolled into cylinders (as in some species of *Prunus*) and bilocular fruits. The new species differs from *E. pachysantha* in having cyathia glands that are elliptic to reniform and directly inserted on the

cyathia cups, rather than crescent shaped and borne on a developed peduncle. *Euphorbia pirahazo* grows in remnant dry, deciduous forest in western Madagascar (south of the Namoroka protected area) and *E. pachysantha* occurs in rainforest in eastern Madagascar, whereas *E. 'haevermansii' ined.* is known only from forests in the area near the Loky-Manambato reserve in northern Madagascar.

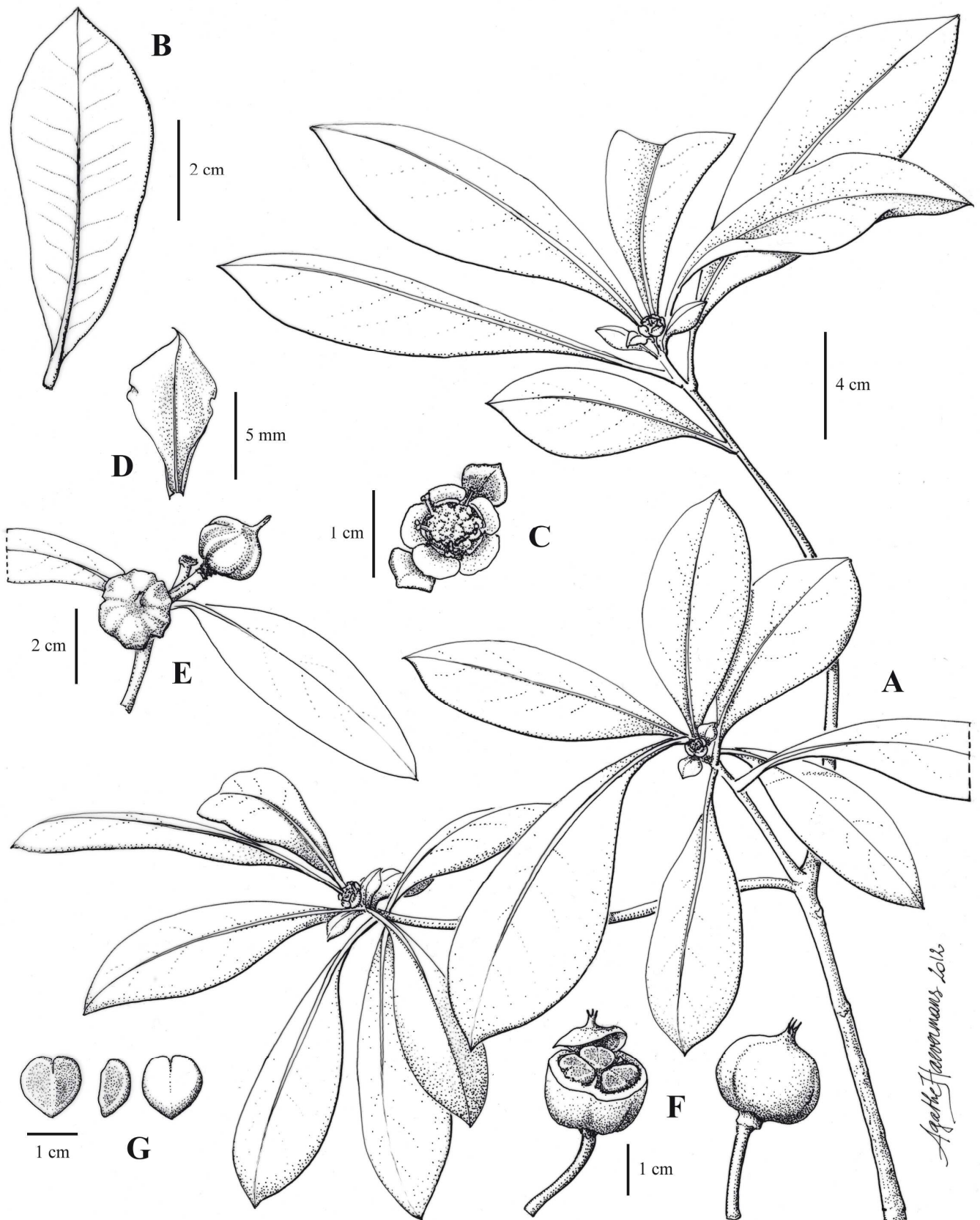


Figure 4 *Euphorbia* 'haevermansii', *spec. nov., ined.* A. Habit. B. Leaf. C. Cyathium. D. Cyathophyll. E. Detail of a fertile branch showing one terminal mature fruit. F. Fruits. G. Details of the seed. A, B, C, D. *Ranirison & Nusbaumer PR 1035* (G, P). E., F, G. *Nusbaumer LN 865* (G).

Euphorbia 'nusbaumeri' X. Aubriot & Lowry, *spec. nov., ined.*²⁴ (Figure 5)

Type:—MADAGASCAR. Province de Diego-Suarez/Antsiranana, sous-préfecture de Vohemar, commune rurale de Daraina, forêt d'Ambilondomba, 13°10'S, 49°39'E, alt. 470 m, 27 January 2004, *Ranirison, Wohlhauser, Nusbaumer PR 321* (holotypus: P [P00751341]!; isotypus: G [G00028186]!)

Shrub to small tree, to 6 m tall, monoecious; trunk to 18 cm in diameter, unbranched at the base; bark smooth, brown; secondary branches slender, in crown at the top of the trunk. White latex present in all organs. Leaves simple, alternate, grouped at the ends of the twigs, blade shiny, light green abaxially, dark green adaxially, fleshy, morphology very variable, elliptic to obovate, (4–)5–6(–8.5) × 2–3(–4), glabrous, primary vein light green, well impressed adaxially, secondary veins numerous, inconspicuous, base attenuate, margin entire, minutely serrate when young, thickened, undulate, apex mucronate; petiole small, (4–)6–8(–10) mm, light green to white, glabrous; stipules 2, gland-like.

Cyathia pseudoterminal, 2 to 4 grouped, less often solitary, functionally protandrous, cupuliform, slightly opened, 0.6 cm in diameter when dry (including the glands), glabrous, borne on well developed peduncles 6–7 mm long; cyathophylls 2, deciduous, glabrous, spatulate, 0.6 × 0.4 cm, apex mucronate, subopposite (<0.5 mm from one another), inserted at the base of the cup. Glands 5, fleshy, contiguous, 3 × 2 mm, elliptic, recurved towards the cup, glabrous; surface light-green and softly dotted when young, orange to reddish when mature; margin yellow-green, undulate. Interglandular bracts 5 covering the cyathia cups when young, orbicular (2 × 2 mm), glabrous, green, margin lacinate. Staminate flowers numerous, divided into 5 cymes, bracteoles numerous, filamentous, hyaline. Staminate flowers weakly exerted from the cyathia cup at maturity, borne on a pedicel 2 mm long, filaments thin, 1 mm long, anthers ca. 1 mm in diameter. Pistillate flower erect, located in the center of the cyathium, glabrous, stigmas 3, bifid, recurved.

Mature fruit (1–)2–4 at the ends of the twigs, erect, borne on peduncle green, ribbed; fruit shiny green, unilocular, spherical, smooth, glabrous, ca. 1 cm in diameter, stigmas 3, persistent, minutely recurved, crowning the fruit. Seeds 1, pea-shaped with two rounded basal lobes, 8 × 8 × 6 mm, apex pointed, testa smooth and green.

²⁴ Nous n'avons pas l'intention de publier ces deux espèces nouvelles dans le cadre de ce travail de thèse. Elles seront publiées ultérieurement et les noms des deux espèces nouvelles sont donnés entre guillemets.

Etymology: — This new species is named in honour of Louis Nusbaumer, who contributed greatly to the inventory project of the once poorly-collected Loky-Manambato region. His constant help with preparations for fieldwork conducted in Madagascar, especially in the northeastern part of the island, was invaluable.

Distribution and ecology: — Tropicophitic semideciduous forests in the Daraina region of northeastern Madagascar. 230–1000 m.

Additional specimens examined: — MADAGASCAR. Forêt de Sahafary S./P. Diégo-Suarez, [12°34'S, 49°26'E], 2 December 1970, fl., *Debray 1558-D* (P); Province de Diego-Suarez/Antsiranana, sous-préfecture de Vohemar, commune rurale de Daraina, forêt de Solaniampilana-Maroadabo, 13°6'S, 49°35'E, 541 m, 5 February 2006, fr., *Nusbaumer & Ranirison LN 2173* (G); Province de Diego-Suarez/Antsiranana, sous-préfecture de Vohemar, commune rurale de Daraina, forêt de Bekaraoka, partie nord, 13°6'S, 49°42'E, 230 m, 12 February 2004, fr., *Nusbaumer & Ranirison LN 1156* (G, P); Province de Diego-Suarez/Antsiranana, sous-préfecture de Vohemar, commune rurale de Daraina, forêt de Solaniampilana-Maroadabo, 13°6'S, 49°35'E, 562 m, 2 February 2006, fr., *Nusbaumer & Ranirison LN 1994* (G, P); Sava, Vohemar, Andrafainkona, Ampisarahina. Forêt dense sub-humide de moyenne altitude de Maromaniry, située à 5 km au Nord d'Ampisarahina, 13°38'38''S, 49°32'51''E, 1090 m, 10 September 2007, fl., *Randriambololomamonjy et al. 392* (MO, P, TAN).

Conservation status: — *Euphorbia 'nusbaumeri' ined.*, with an Extent of Occurrence (EOO) <500 km², an Area of Occupancy (AOO) of ca. 40 km², and 2 severely fragmented subpopulations, is assigned a provisional status of Endangered (EN B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii)) based on the IUCN Red List Criteria (IUCN, 2011).

Discussion: — *Euphorbia 'nusbaumeri' ined.* most closely resembles to *E. 'haevermansii' ined.*, but differs in having fruits 1-seeded, unilocular, smooth and grouped by 2 to 4 whereas *E. 'haevermansii' ined.* bears 3-seeded fruits, trilocular, deeply sulcate and solitary or grouped by 2. The seeds of *Euphorbia 'nusbaumeri' ined.* are pea-shaped whereas those of *E. 'haevermansii' ined.* are trigone. The cyathia of *Euphorbia 'nusbaumeri' ined.* are borne on well developed peduncles (6–7 mm long) whereas those of *E. 'haevermansii' ined.* are borne on weakly developed peduncles (4 mm long). Cyathophylls of *Euphorbia 'nusbaumeri' ined.*

are directly inserted at the base of the cyathia cup whereas cyathophylls of *E. 'haevermansii' ined.* are inserted at the base of the peduncle (no cyathophylls or insertion traces visible on the peduncle).

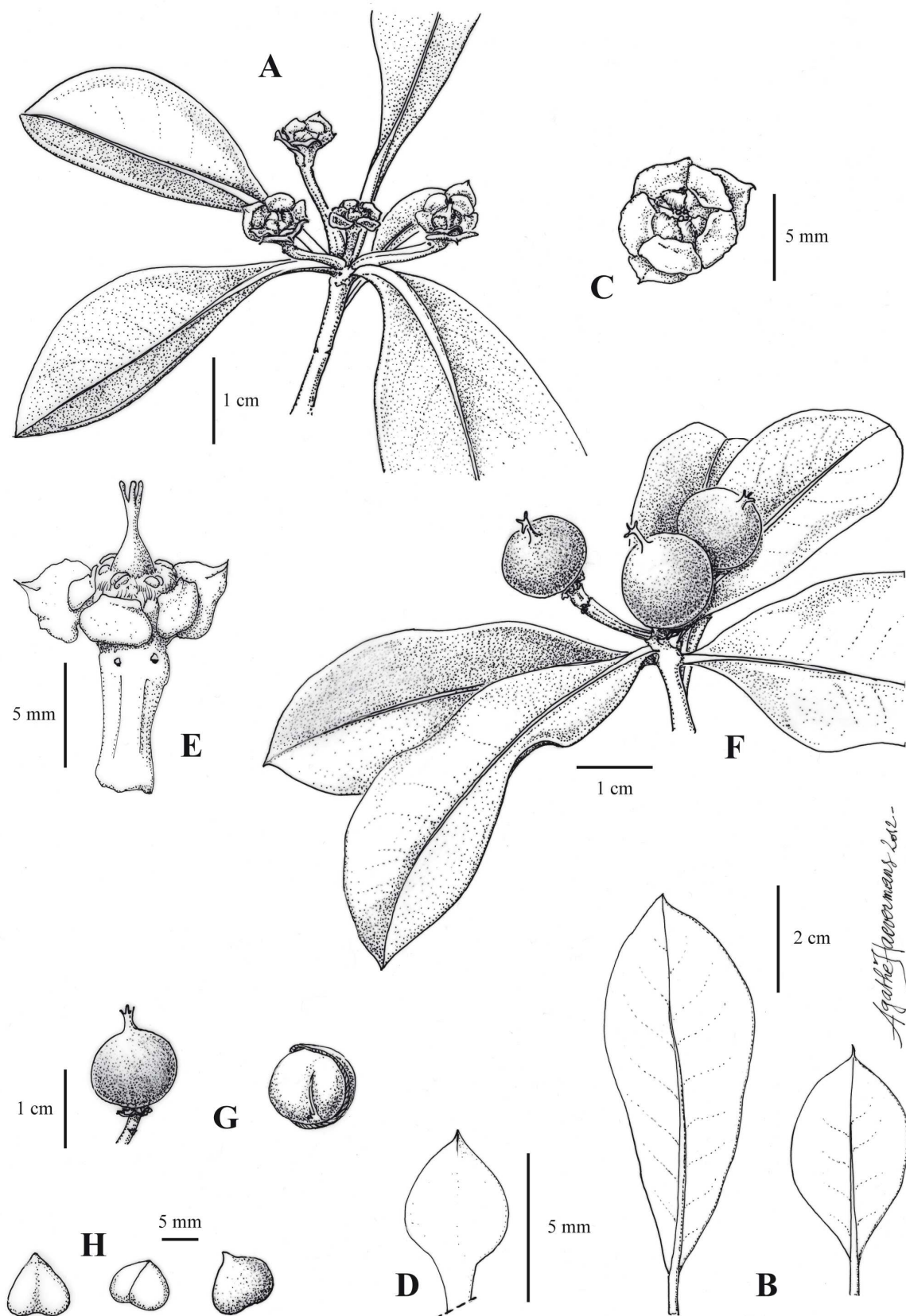


Figure 5 *Euphorbia 'nusbaumeri'*, *spec. nov., ined.* A. Detail of a fertile branch showing four terminal cyathia. B. Leaves. C. Cyathium. D. Cyathophylls. E. Detail of a young female flower with the ovary still half included in the cup. F. Detail of a fertile branch showing three terminal mature fruit. G. Details of a fruit. H. Details of a seed. A, C. *Randriambololomonjy et al.* 392 (MO, P, TAN). B, F, G, H. *Ranirison, Wohlhauser, Nusbaumer PR 321* (G, P). D, E. *Debray 1558-D* (P).

Acknowledgments

The authors wish to thank the CNRE (Centre National de Recherche sur l'Environnement, Antananarivo, Madagascar), the MNP (Madagascar National Parks) and the local office of the Missouri Botanical Garden (MO) in Antananarivo for assistance during fieldwork and for help with obtaining export permits. We are much indebted to Louis Nusbaumer (G) and Laurent Gautier (G) for their advice and assistance in preparing fieldwork in northern Madagascar. We also wish to thank Agathe Haevermans (P) for the fine drawings and Zachary Rogers (MO) for performing some fruit dissections. The authors are grateful to the curators of the following herbaria for access to their collection: G, MO, P, TAN. Financial support for fieldwork was provided by the PPF MNHN "Taxonomie moléculaire : DNA Barcode & gestion durable des collections", Sud-Expert-Plantes Programme # 382, and an ANR EVORANGE 6^{ème} extinction grant.

Chapitre 4

DNA Barcoding in a biodiversity hotspot: potential value for the identification of Malagasy *Euphorbia* L. listed in CITES Appendices I and II (sous presse in *Molecular Ecology Resources*)

XAVIER AUBRIOT,^{*} PORTER P. LOWRY II,^{*†} CORINNE CRUAUD,[‡] ARNAUD COULOUX[‡] and THOMAS HAEVERMANS^{*}

^{*}Muséum national d'histoire naturelle, Département Systématique et Evolution, UMR 7205 MNHN/CNRS Origine Structure et Evolution de la Biodiversité (OSEB), Herbarium Plantes Vasculaires, CP 39, 57 rue Cuvier, 75231 Paris CEDEX 05, France, [†]Missouri Botanical Garden, PO Box 299, St. Louis, Missouri 63166–0299, USA, [‡] Genoscope, Centre National de Séquençage, CP 5706, 2 rue Gaston Crémieux, 91057 Evry CEDEX, France

Keywords: Conservation, DNA barcoding, *Euphorbia*, species identification, illegal trade, *matK* and *rbcL*, *psbA-trnH* and ITS.

Correspondence: Xavier Aubriot, Tel.: +33 1 71 21 46 45; E-mail: aubriot@mnhn.fr

Abstract

The island of Madagascar is a key hotspot for the genus *Euphorbia*, with at least 170 native species, almost all endemic. Threatened by habitat loss and illegal collection of wild plants, nearly all Malagasy *Euphorbia* are listed in CITES Appendices I and II. The absence of a reliable taxonomic revision makes it particularly difficult to identify these plants, even when fertile, and thereby compromises the application of CITES regulations. DNA barcoding, which can facilitate species level identification irrespective of developmental stage and the presence of flowers or fruits, may be a promising tool for monitoring and controlling trade involving threatened species. In this study, we test the potential value of barcoding on 41 *Euphorbia* species representative of the genus in Madagascar, using the two widely-adopted

core barcode markers (*matK* and *rbcL*), along with two additional DNA regions, nuclear ITS and the chloroplastic intergenic spacer *psbA-trnH*. For each marker and for selected marker combinations, inter- and intra-specific distance estimates and species discrimination rates are calculated. Results using just the ‘official’ barcoding markers yield overlapping inter- and intra-specific ranges and species discrimination rates below 60%. When ITS is used, whether alone or in combination with the core markers, species discrimination increases to nearly 100%, whereas the addition of *psbA-trnH* produces less satisfactory results. This study, the first ever to test barcoding on the large, commercially important genus *Euphorbia*, shows that this method could be developed into a powerful identification tool and thereby contribute to more effective application of CITES regulations.

Introduction

During the last decade, DNA barcoding has been promoted as a new tool to facilitate species level identification of organisms (Hebert et al. 2003a,b) by accelerating and automating the process using short, standardized DNA regions as species tags. Material that might be unidentifiable using traditional morphological methods alone can, by means of barcoding, easily and reliably be assigned to a species. The Plant Working Group of the Consortium for the Barcode of Life (CBOL Plant Working Group 2009) has recently selected a set of markers for plant barcoding, although they have not yet been tested across the full diversity of plant groups. Given the rapidly increasing use of DNA sequencing as both technical and financial constraints diminish, barcoding is becoming an increasingly promising approach, particularly in the context of large-scale biodiversity surveys for which rapid, accurate identifications are required (Lahaye et al. 2008, Vernooy et al. 2010). Moreover, there is an urgent need to develop a cost-effective system for easy and reliable identification in fields such as drug discovery, verification of herbals and other plant-based products, ecological studies, and the national and international regulation of trade involving biological materials — e.g., species regulated by the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) (Cowan et al. 2006, Chase et al. 2005, Valentini et al. 2009, Ogden et al. 2009, Yesson et al. 2011, Johnson 2010). However, the practical use of DNA barcoding is still in a developmental stage and it is therefore crucial to conduct real-life tests to evaluate its effectiveness as an identification tool, particularly in the context of applied uses such as the control and management of threatened and/or protected organisms, for which barcoding is often promoted. To our knowledge only two studies evaluating the barcoding approach for

CITES listed plants have been published to date (see Yesson et al. 2011 and Parveen et al. 2012), which points to the need for additional research to assess its general utility for the conservation and management of illegally traded endangered plants.

Malagasy *Euphorbia* provide a good model for testing the utility of DNA barcode methods for plant identification. *Euphorbia*, the second largest genus of flowering plants (with ca. 1850–2000 species), is present in almost every part of the globe (Govaerts et al. 2000, Steinmann & Porter 2002, Mabberley 2008). Nevertheless, no reliable taxonomic revision or authoritative reference work is available for the genus, and the most recent comprehensive treatment is that of Boissier, published 150 years ago (Boissier 1862, 1866). Recent taxonomic and phylogenetic studies of *Euphorbia* have focused on establishing a new sub-generic classification (Bruyns et al. 2006, Yang et al. 2012) or on revising geographically localized species (Binojkumar & Balakrishnan 2010, Pahlevani & Riina 2011, Pahlevani et al. 2011), and thus contribute to an ongoing revision of the entire genus.

The island of Madagascar has at least 170 species of *Euphorbia*, 98% of which are endemic, making it a key hot-spot for the genus (Haevermans 2003). Despite this exceptional diversity, no general treatment of Malagasy *Euphorbia* is available and only few recent taxonomic and phylogenetic works have attempted to encompass the full diversity of Malagasy *Euphorbia* (see Haevermans 2003, Rebmann 2007, and also Rauh 1995, 1998 for succulent taxa).

Micro-endemism is a common phenomenon within Malagasy *Euphorbia*, as many species are restricted to small areas and comprise fragmented populations (Haevermans 2003). Owing both to severe degradation and destruction of their natural habitats (Harper et al. 2007) and to excessive pressure from illegal collecting, around 80% of Malagasy *Euphorbia* species are threatened, i.e., they are either vulnerable, endangered or critically endangered (Haevermans et al. 2004), according to the International Union for Conservation of Nature (IUCN) risk of extinction criteria and categories (IUCN 2001). Many Malagasy species of *Euphorbia* are illegally collected in the wild by unscrupulous collectors (X. Aubriot and T. Haevermans, pers. obs.) and internationally traded, presenting significant threats as a result of overexploitation, sometimes leading to the total decimation of entire populations. Consequently, nearly all native species are listed in CITES Appendices I or II (Haevermans et al. 2004). All taxa currently listed in Appendix I belong to the endemic subgenus *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert (ca. 110 taxa *sensu* Haevermans et al. 2009, Haevermans et al. 2004), which includes the most critically threatened life forms (i.e., spiny and succulent species as well as geophytes). Moreover, Malagasy *Euphorbia* are notoriously difficult to identify, and

most taxa have been described by amateurs in obscure publications, making reliable application of species concepts and identification even more problematical. Consequently, although the genus shows a tremendous range of morphologies, closely related species are often difficult to distinguish from one another, even when in flower or fruit. Because Malagasy *Euphorbia* are highly threatened by habitat loss and illegal collection for commercial purposes and are perplexingly difficult to identify, they constitute an exemplary group for which DNA barcoding might serve as a particularly valuable identification tool for management and control.

The work presented here is based on a representative sample comprising around 25% of the Malagasy *Euphorbia* species, which is used to estimate sequence quality and the discriminatory power of barcode markers. Specifically, we aim to determine if the currently adopted core barcode markers, *matK* and *rbcL*, are adequate to identify Malagasy *Euphorbia*. We also seek to test the potential value of two additional markers, *psbA-trnH* (Kress et al. 2005, CBOL Plant Working Group 2009) and nuclear ITS (Kress et al. 2005, Sass et al. 2007), taken alone or as complements to the core markers. Then, we explore the potential use of the DNA barcoding method to help clarify species limit within Malagasy *Euphorbia*. And finally, we examine issues regarding the technical feasibility of DNA barcoding for identifying and managing threatened species, including those covered by CITES .

Materials and Methods

Taxon and marker sampling

Recent targeted fieldwork in Madagascar, supplemented by the study of living plants in several European collections (in particular those in Wageningen and Heidelberg), allowed us to compile our core sampling, which covers at least 60% of Malagasy species (i.e., around 100 species). However, given the diversity of the genus in Madagascar (at least 170 spp.) and the current lack of clarity regarding the delimitation of some members of the group, taxon selection is a key issue for any molecular study aiming to test species concepts. To minimize errors in identification, we therefore limited our sampling for the present study to material that could be identified unambiguously. We also excluded a few specimens belonging to possible new species or for which species-level identification was uncertain. *In fine*, the core sampling comprised material of 41 species (representing around 25% of the total in Madagascar), including members of each of the infra-generic groups defined by Haevermans (2003), with

the sole exception of the monotypic *E. antso* group. At least two accessions of each species were used, resulting in a total of 148 samples and 592 sequences (Table 1; Appendix S2, Supporting information). Following the recommendations of the CBOL Plant Working Group (2009), we sequenced the two core barcodes (*matK* and *rbcL*), both of which represent portions of coding plastid genes. In an attempt to explore other potentially useful loci, we also sequenced the plastid intergenic spacer *psbA-trnH* and the nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region (comprising ITS1, 5.8s and ITS2) (For a complete list of the molecular markers used, see the Appendix S1, Supporting Information).

Sub-generic clades (<i>vide</i> Haevermans 2003)	Species	No. of accessions sequenced for all 4 markers
Clade of <i>E. miii</i>	<i>Euphorbia ambarivatoensis</i>	2
	<i>Euphorbia ankarensis</i>	2
	<i>Euphorbia banae</i>	2
	<i>Euphorbia berorohae</i>	3
	<i>Euphorbia bulbispina</i>	2
	<i>Euphorbia capmanambatoensis</i>	5
	<i>Euphorbia capsaintemariensis</i>	4
	<i>Euphorbia cf. miii</i>	5
	<i>Euphorbia cylindrifolia</i> ssp. <i>cylindrifolia</i>	3
	<i>Euphorbia didiereoides</i>	2
	<i>Euphorbia gottbebei</i>	2
	<i>Euphorbia hoffstaetteri</i>	3
	<i>Euphorbia horombensis</i>	8
	<i>Euphorbia iharanae</i>	2
	<i>Euphorbia labatii</i>	3
	<i>Euphorbia leuconeura</i>	3
	<i>Euphorbia lophogona</i>	3
	<i>Euphorbia millotii</i>	7
	<i>Euphorbia neohumbertii</i>	2
	<i>Euphorbia paulianii</i>	2
<i>Euphorbia rossii</i>	3	
<i>Euphorbia thuarsiana</i>	3	
<i>Euphorbia viguieri</i>	3	
<i>Euphorbia waringiae</i>	3	
Clade of <i>E. pyrifolia</i>	<i>Euphorbia ankaranae</i>	2
	<i>Euphorbia mahabobokensis</i>	6
	<i>Euphorbia martiniae</i>	2
Clade of <i>E. alluaudii</i>	<i>Euphorbia alluaudii</i>	14
	<i>Euphorbia cedrorum</i>	2
Clade of <i>E. pachysantha</i>	<i>Euphorbia mananarensis</i>	4
	<i>Euphorbia mandravioky</i>	6
Clade of <i>E. tirucalli</i> and <i>E. tetraptera</i>	<i>Euphorbia analalavensis</i>	2
	<i>Euphorbia decorsei</i>	3
	<i>Euphorbia enterophora</i>	4
	<i>Euphorbia intisy</i>	3
	<i>Euphorbia kamponii</i>	2
	<i>Euphorbia randrianjohanyi</i>	4
	<i>Euphorbia rauhii</i>	4
<i>Euphorbia tirucalli</i>	5	
Clade of <i>E. denisii</i>	<i>Euphorbia denisii</i>	4
Clade of <i>E. orthoclada</i>	<i>Euphorbia orthoclada</i>	4

41 species

148 accessions

Table 1. List of the Malagasy *Euphorbia* species included in the present study, sorted by infra-generic clade affiliation. All four markers (*matK*, *rbcL*, *psbA-trnH* and ITS) were sequenced for each accession.

DNA extraction, amplification, sequencing and data assembly

Total DNA was extracted from leaf fragments, flowers or young green shoots (for leafless individuals), which were dried immediately after collection in silica gel (Chase & Hills 1991). Dried material was ground using a Mixer Mill MM 300™ with tungsten carbide beads (Qiagen Inc.) and with molecular grade Fontainebleau sand. Total DNA was extracted with the Dneasy™ Plant kit (Qiagen Inc.) following the manufacturer's protocol. All PCRs were performed in a total reaction volume of 25 µL containing 15.75 µL of autoclaved ion-exchanged water, 5 µL of Taq & Load Mastermix (MP Biomedicals Inc.), 0.75 µL of DMSO (1M), 1 µL of each primer (10µM) and 1.5 µL of unquantified DNA template.

The entire ITS region was amplified using the following PCR protocol: 2-min initial denaturation at 94°C, 30 cycles of 1-min denaturation at 94°C, 1-min annealing at 52°C, and 3-min extension at 72°C followed by a final extension of 7-min at 72°C. PCRs for *matK* were performed with a 2-min initial denaturation at 94°C, 32 cycles of 1-min denaturation at 94°C, 1-min annealing at 53°C, and 1.5-min extension at 72°C followed by a final extension of 4-min at 72°C. PCRs for *rbcL* were carried out with a 1-min initial denaturation at 94°C, 35 cycles of 1-min denaturation at 94°C, 1-min annealing at 48°C, and 1.5-min extension at 72°C followed by a final extension of 4-min at 72°C. Finally, PCRs for *psbA-trnH* were performed with a 5-min initial denaturation at 96°C, 34 cycles of 1-min denaturation at 96°C, 1-min annealing at 52°C, and 0.5-min extension at 72°C followed by a final extension of 5-min at 72°C.

Purification and sequencing of PCR products was performed by the National Centre for Sequencing (Génoscope) in Evry, France, using the same primers, except for ITS and *rbcL*, for which a pair of interior primers was used (see Appendix S1, Supporting information). The complete sequences were assembled and manually edited using Sequencher® 4.9 (Gene Codes Corp.). The sequences and voucher information are archived in GenBank (Appendix S2, Supporting information; GenBank Accession number JQ951967–JQ952558).

Data analysis

To estimate the quality of *Euphorbia* sequences, we used a recently published Barcode quality index, B_{30} (Little 2010, Jeanson et al. 2011), which takes into account sequence quality and the extent of the overlap between complementary DNA strands of the same sequence. B_{30} values that tend towards 1 indicate that sequence quality is maximal and that overlap between the DNA strands is nearly complete. B_{30} index values were calculated for each sequence (with

the exception of those lacking quality values and those with mono-strand sequences), and variation in sequence quality among and within marker was tabulated. We used the pairwise t-test in R (R 2.14.0; <http://cran.r-project.org/>) to assess statistical differences in sequence quality among barcode markers.

For each marker, sequences were automatically aligned using MUSCLE 3.6 software (Edgar 2004), visually adjusted as needed, and trimmed to the outermost external barcoding primers. However, when the sequences obtained at the 5' and 3' extremities were of poor quality, as was often the case, they were deleted in order to avoid biases in the analyses. Thus, for the *matK* barcoding region, the first 53 bases and the last 40 bases were excluded from the aligned matrix. Similarly, for *psbA-trnH*, the first and last 47 bases were removed, and the last 14 bases were trimmed off the 3' extremity of ITS sequences. The pairwise p-distances were calculated and analyzed for each region using the MEGA 5.0 Kimura two-parameter (K2P) model (Tamura et al. 2011). The frequency distributions of interspecific and intraspecific sequence divergences for each barcode region were then estimated.

In order to test the rate at which accurate identifications of material were made based on the barcode sequences in our dataset, we used the program TAXONDNA (Meier et al. 2006), both for each marker taken individually and for selected combinations of two or more markers. By assessing the pairwise p-distances of an aligned data set, this software determines the closest match of a given sequence by comparing it to all others. To determine the proportion of successful identifications for each marker taken individually, we used the 'Best match' and 'Best close match' criteria in TAXONDNA. We then assessed the identification scores for the concatenation of the two core barcodes (*matK* and *rbcL*), to which we subsequently added the ITS and *psbA-trnH* sequence data. The 'Best match' method determines the closest match for a given sequence; if the closest match belongs to the same species the identification is considered a success, if it belongs to another species it is regarded as a misidentification, and if several equally good 'best matches' are recovered referring to two or more different species, the identification is scored as ambiguous. Using the frequency distribution of the intraspecific pairwise distances, the TAXONDNA program calculates a similarity threshold value below which are found 95% of all intraspecific pairwise distances (Meier et al. 2006, Newmaster et al. 2008). The 'Best close match' method identifies all barcode matches whose value exceeds this threshold; these are regarded as unidentified. If a barcode match is lower than the threshold value, the results are interpreted in a manner similar to that of the 'Best match' criteria.

Results

Sequence quality

The best sequence qualities were obtained for *psbA-trnH* (mean $B_{30} = 0.86$) and the two core barcodes *matK* and *rbcL* (mean $B_{30} = 0.85$ for both); 75% of the sequences obtained from *rbcL*, *matK* and *psbA-trnH* had a B_{30} value above ca. 0.80. Sequence quality for these three markers was not statistically different (Pairwise t-test, $P = 0.05$). ITS had the lowest sequence quality (mean $B_{30} = 0.74$), a value that is statistically different from those of the other three markers (Pairwise t-test, $P = 0.05$); 25% of ITS sequences had a low B_{30} , falling below 0.66 (Figure 1).

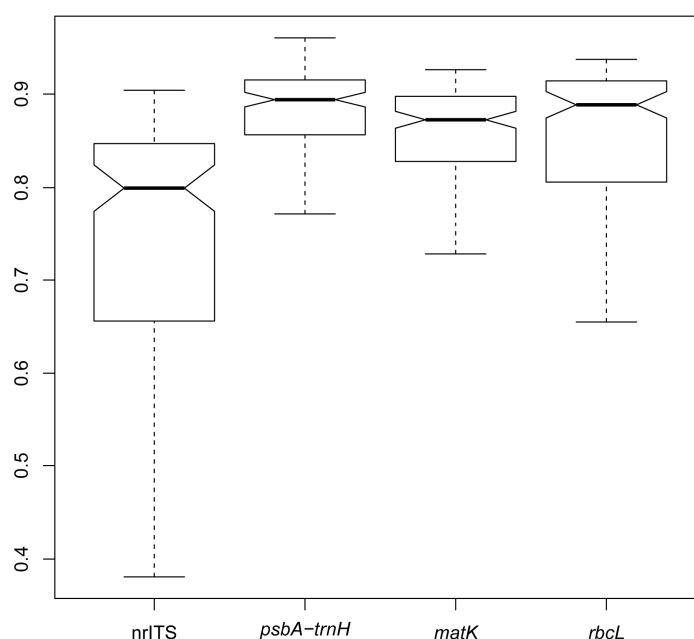


Figure 1 Box plots of sequence quality (B_{30}) [y-axis], for each of the four barcoding markers used [x-axis].

Sequence divergence and identification success

The two core barcode markers (matK and rbcL)

The aligned *rbcL* matrix (excluding external primers) was 1450 pb in length, with 70 variable sites and no indels. Interspecific distances (ranging from 0–0.027) were generally larger than intraspecific values (0–0.002). However, no discontinuity was found between intra- and interspecific ranges. Around 30% of the interspecific distances are below 0.002 (Figure 2). On its own, *rbcL* is of very limited value for correctly matching sequences to species: under both the ‘best match’ and ‘best close match’ models, less than 50% of the *rbcL* sequences were correctly identified, and most of the identifications (ca. 55%) were ambiguous (Table 2).

The *matK* region was 825 pb long when aligned, with 121 variable sites and two gaps (resulting from insertions present in some samples). Interspecific distances (0–0.094) were indistinguishable from intraspecific values (0–0.005), with ca. 27% of the interspecific distances below 0.005 (Figure 2). As with *rbcL*, *matK* alone does not perform well for making identifications based on sequences, with only ca. 50% proving successful.

When data for the two core barcodes are concatenated, they still performed rather poorly, with only ca. 60% successful identifications. Intraspecific distances (0–0.003) overlapped with interspecific distances (0–0.05), with around 23% of the latter below 0.003.

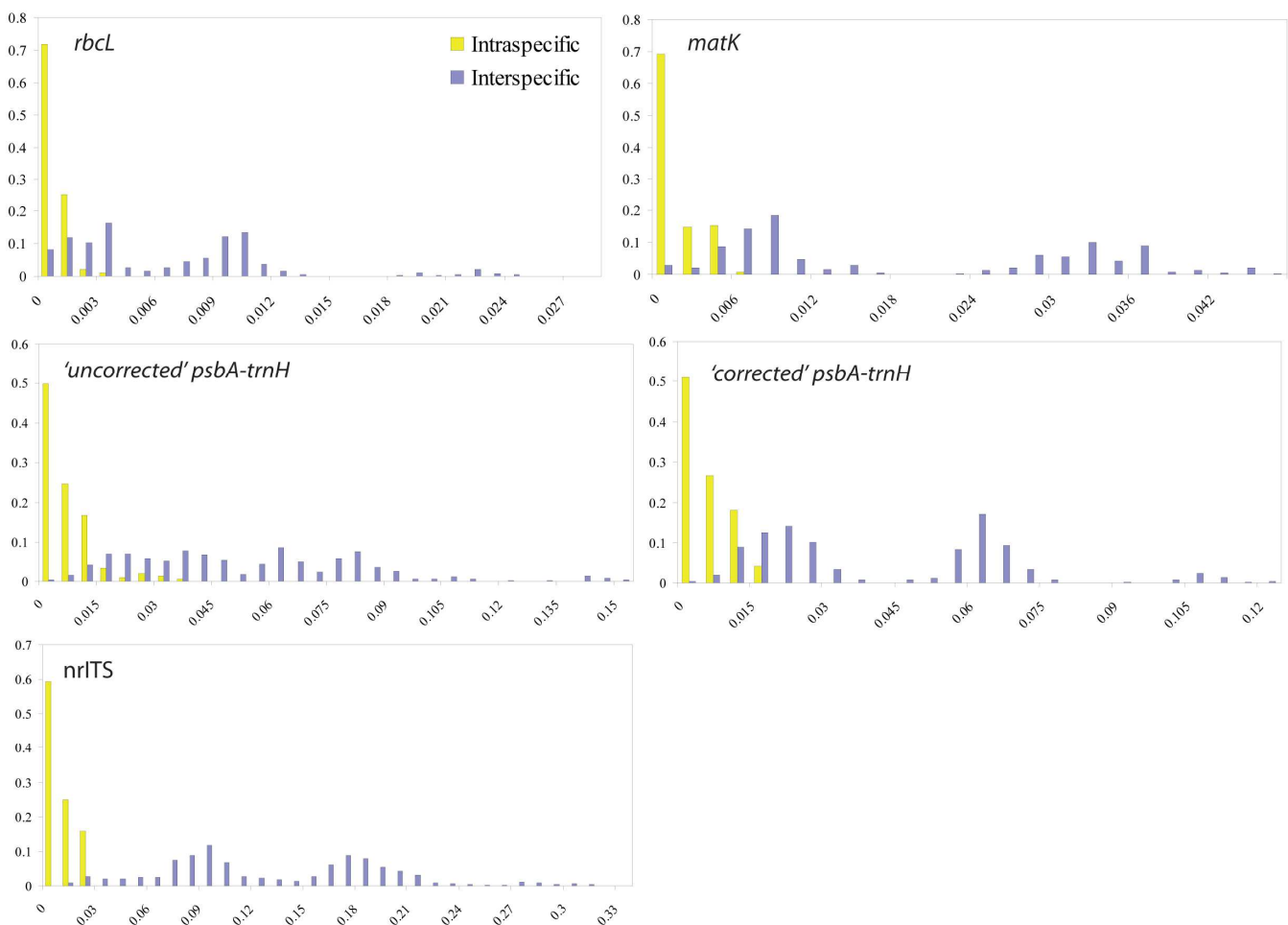


Figure 2 Histograms of the frequencies (y-axes) of pairwise intra- and interspecific divergence distances (x-axes) among all 148 samples of Malagasy *Euphorbia* for each barcoding marker.

Additional markers: *psbA-trnH* and ITS

When aligned, the *psbA-trnH* region was 1128 pb in length, with 219 variable sites, numerous indels, and a single inversion (from bases 69 to 92). The effect of inversions on the barcode analyses has been documented in several studies (Whitlock et al. 2010, Jeanson et al. 2011). Depending on the dataset, correcting for inversion resulted either in a positive impact on species identification (Whitlock et al. 2010) or a negative one (Jeanson et al. 2011). In order to estimate the effects of the inversion found in *psbA-trnH* sequences on the identification of Malagasy *Euphorbia* species, we first conducted our analyses using an ‘uncorrected’ *psbA-trnH* matrix and then a ‘corrected’ matrix, in which the sequences of the inversion were manually re-inverted.

As expected, distances between sequences were lower when using the ‘corrected’ *psbA-trnH* matrix, which yielded interspecific values ranging from 0–0.119 as compared to distances from 0–0.150 for the ‘uncorrected’ matrix. Intraspecific values were 0–0.013 using the ‘corrected’ *psbA-trnH* matrix, versus 0–0.032 for the ‘uncorrected’ matrix. The overlap between interspecific and intraspecific distances is greater when using the ‘uncorrected’ matrix (35% of

Table 2 Identification success of Malagasy *Euphorbia* based on the “best match” and “best close match” functions of the program TAXONDNA (Meier et al. 2006) for each barcoding marker and for selected combinations of two or more markers. The preferred barcoding option for identification of the Malagasy *Euphorbia* is highlighted in grey. Highest values for each barcoding marker and for each function of the program (‘best match’ and ‘best close match’) are given in bold.

Regions	Best match					Best close match				
	Successfully identified	Ambiguous	Misidentified	Successfully identified	Ambiguous	Misidentified	No match	Threshold		
<i>mark</i>	72 (48.64%)	70 (47.29%)	6 (4.05%)	71 (47.97%)	70 (47.29%)	6 (4.05%)	1 (0.67%)	0.27%		
<i>rbcl</i>	63 (42.56%)	82 (55.4%)	3 (2.02%)	58 (39.18%)	76 (51.35%)	3 (2.02%)	11 (7.43%)	0.06%		
<i>mark + rbcl</i>	88 (59.45%)	55 (37.16%)	5 (3.37%)	87 (58.78%)	54 (36.48%)	5 (3.37%)	2 (1.35%)	1.03%		
<i>psbA-trnH</i> ‘non-corrected’	118 (79.72%)	17 (11.48%)	13 (8.78%)	118 (79.72%)	17 (11.48%)	13 (8.78%)	0 (0.0%)	1.90%		
<i>psbA-trnH</i> ‘corrected’	119 (80.4%)	16 (10.81%)	13 (8.78%)	119 (80.4%)	16 (10.81%)	13 (8.78%)	0 (0.0%)	0.93%		
<i>mark + rbcl + psbA-trnH</i> ‘non-corrected’	123 (83.1%)	11 (7.43%)	14 (9.45%)	123 (83.1%)	11 (7.43%)	14 (9.45%)	0 (0.0%)	0.50%		
<i>mark + rbcl + psbA-trnH</i> ‘corrected’	125 (84.45%)	12 (8.1%)	11 (7.43%)	125 (84.45%)	12 (8.1%)	11 (7.43%)	0 (0.0%)	0.33%		
nrITS	147 (99.32%)	0 (0.0%)	1 (0.67%)	147 (99.32%)	0 (0.0%)	1 (0.67%)	0 (0.0%)	1.30%		
<i>mark + rbcl + nrITS</i>	147 (99.32%)	0 (0.0%)	1 (0.67%)	147 (99.32%)	0 (0.0%)	1 (0.67%)	0 (0.0%)	0.40%		
<i>mark + rbcl + psbA-trnH</i> ‘non-corrected’ + nrITS	143 (96.62%)	2 (1.35%)	3 (2.02%)	140 (94.59%)	2 (1.35%)	2 (1.35%)	4 (2.7%)	0.54%		
<i>mark + rbcl + psbA-trnH</i> ‘corrected’ + nrITS	145 (97.97%)	2 (1.35%)	1 (0.67%)	145 (97.97%)	2 (1.35%)	1 (0.67%)	0 (0.0%)	0.48%		

the interspecific distances below 0.032) than for the ‘corrected’ matrix (22% of the interspecific distances below 0.013) (Figure 2).

The *psbA-trnH* region, whether ‘corrected’ or not for the inversion, provides a comparatively high reliability of identification, with a success rate of ca. 80% (the rate of accurate identification being slightly better using the ‘corrected’ matrix). However, when the *psbA-trnH* region is concatenated with the two core barcodes, identification success increases only slightly, and does not exceed 85% (Table 2).

The aligned ITS region was 713 pb in length, with 337 variable sites and several indels. Interspecific distances (0–0.324) showed little overlap with intraspecific values (0–0.015), and only 2% of the interspecific values were below 0.015 (Figure 2). The ITS region was the most efficient of the four markers examined at successfully discriminating species, with a rate of nearly 100%, which was unchanged with the addition of *matK* and *rbcL* (Table 2).

When all four barcode regions (*rbcL*, *matK*, *psbA-trnH*, and ITS) were concatenated together, the rate of accurate identification dropped slightly to ca. 97%. As for *psbA-trnH* alone, identification power of the fully concatenated dataset was slightly better using the ‘corrected’ *psbA-trnH* matrix.

Discussion

The illegal exploitation and sale of wildlife represents a flourishing multi-billion dollar industry that contributes significantly to the mounting threats faced by thousands of plant and animal species (Johnson 2010). The ability of countries that have signed the CITES convention to regulate international trade of biological materials is, however, severely hampered by a lack of reliable procedures to make accurate identifications of samples that require verification. Barcoding offers the prospect of providing just such a tool. Our results indicate that this method indeed provides a powerful way to identify species of *Euphorbia* from Madagascar, and they suggest that barcoding may be useful for discriminating the ca. 2000 species that comprise the genus as a whole, including the succulent taxa whose trade is regulated under CITES.

The successful application of barcoding requires high quality DNA sequences (Little 2010, CBOL Plant Working Group 2009). For the sample of Malagasy *Euphorbia* studied here, mean sequence quality (mean B₃₀) ranged between 0.74 and 0.86 (with a minimum of 0.38 and a maximum of 0.96), values that are consistent with those obtained in other studies, which fell between 0.40 and 0.93 (Jeanson et al. 2011, Little 2010). These values also match

the criteria indicated by the CBOL Plant Working Group (2009) as sufficiently reliable for barcoding. However, species discrimination is ambiguous when only the two core barcode markers, *matK* and *rbcL*, are used, whether individually or together. This is consistent with earlier reports; the limited power of *matK* and *rbcL* has been observed in several other plant groups, including the family *Myristicaceae* (Newmaster et al. 2008) and the palm tribe *Caryoteae* (Jeanson et al. 2011). When two supplemental markers (ITS and *psbA-trnH*) were used, however, the accuracy of identification increased noticeably. Despite the fact that ITS had the lowest sequence quality of the four markers studied, it nevertheless provides a high level of successful identification. Identification success using ITS approached 100%, whether used alone or in combination with the two core barcode markers, far exceeding the 72% rate obtained by the core markers promoted by the CBOL Plant Working Group (2009). Our results also show that ITS is much more informative than *psbA-trnH*, and should be used preferentially for the barcoding of Malagasy *Euphorbia*. Moreover, the numerous insertions/deletions found in *psbA-trnH* make sequence alignment difficult and compromise its potential value as a barcode region (Lahaye et al. 2008, Jeanson et al. 2011). As the inversions in *psbA-trnH* do not appear to be species-specific within Malagasy *Euphorbia*, if this marker is used, the matrix should always either be ‘corrected’ or the portion of the sequence corresponding to the insertions should be deleted. Whitlock et al. (2010), in a study of six species of *Gentianaceae*, showed that maintaining inversions in a dataset can lead to an overestimate of intraspecific distances, whereas Jeanson et al. (2011) found that correcting for inversion tends to compromise the diagnostic value of a mostly interspecific set of bases and thereby lower the identification power of *psbA-trnH* region. Regardless of whether correction for inversions is required in a particular group, the fact that *psbA-trnH* cannot universally be used without first considering this constraint limits its overall utility as a barcode marker.

An important potential drawback of ITS as a barcoding region is that it may be subject to paralogy, i.e., the presence of multiple copies that may not be identical to one another, a situation that has been reported in the genome of *Euphorbia* (Yang & Berry 2011). Sampling of divergent paralogues for a given specimen and/or species would potentially lead to misidentification, reducing the value of ITS as a barcode marker. Notwithstanding this potential problem, we observed only a single ITS band on the agarose gels we ran, and we did not obtain overlapping signals on any of the corresponding electropherograms, suggesting that at least in the case of Malagasy *Euphorbia*, either ITS is represented by a single copy or if multiple copies exist, their sequences have undergone concerted evolution.

Based on a broad study of numerous groups, the CBOL Plant Working Group (2009) formally designated *matK* and *rbcL* as its ‘standard 2-locus barcode’. Our results show, however, that the concatenation of these two ‘official’ barcodes with ITS does not increase identification power over ITS when used alone. Thus, at least for Malagasy *Euphorbia*, the use of *matK* and *rbcL* as barcode markers to support application of the CITES convention would be superfluous. ITS offers a reliable barcoding option for rapid, economic and accurate species discrimination among the Malagasy *Euphorbia* included in our study.

Considering the high rate of successful identification we obtained using ITS, DNA barcoding may also be of value for clarifying the chaotic taxonomy and species circumscription among Malagasy *Euphorbia*. Recent results based on molecular data have shown that several species and subspecies, as currently delimited, are para- or polyphyletic (Aubriot et al., unpubl. data). In particular, DNA barcoding may help elucidate relationships within certain groups such as the *E. pyrifolia* Lam. clade, in which most species concepts are unclear and a critical taxonomic assessment is badly needed (Haevermans 2003). The contribution of DNA barcoding to resolving taxonomic issues within the *E. pyrifolia* clade will be addressed in a forthcoming paper.

Given the tremendous taxonomic and structural diversity found in *Euphorbia* and considering the chronic difficulty of accurately identifying material based on morphology alone, DNA barcoding may be a useful identification tool for the genus worldwide. The utility of several markers, including ITS, *psbA-trnH*, *matK* and *rbcL*, for phylogenetic analysis of *Euphorbia* has already been demonstrated in several studies that successfully employed extensive sampling without noticeable problems of amplification, sequencing or alignment (Steinmann & Porter 2002, Bruyins et al. 2006, Zimmermann et al. 2010, Yang & Berry 2011, Horn et al. 2012). The expanded use of these markers for further efforts to explore phylogenetic relationships within the genus seems assured, but our results suggest that ITS alone may be sufficient for barcoding efforts aimed at facilitating the accurate identification of species of *Euphorbia*.

Currently all succulent species of *Euphorbia* are covered under the CITES convention. Yet it is not always possible to determine whether a plant, cutting, seed or other propagule belongs to a succulent species, and as a consequence material of other species may erroneously be subjected to CITES control. Moreover, some succulent *Euphorbia* currently covered under CITES are in fact common and widespread, and international trade does not represent a threat, yet it is often impossible to distinguish them from other succulent species

that are highly threatened. Reliable barcoding procedures for all Malagasy *Euphorbia* could help resolve these issues, enabling control for those species that require it while allowing trade for those that are not threatened, and thereby providing a much-needed source of sustainable income for Madagascar.

Acknowledgments

We thank the CNRE (Centre National de Recherche sur l'Environnement), MNP (Madagascar National Parks), and the local office of the Missouri Botanical Garden, all in Antananarivo, for in-country assistance and for help obtaining permits. We also wish to thank Wilbert Hetterscheid for help with collecting some crucial *Euphorbia* samples. The authors are grateful to Frederic Austerlitz, Damon Little and Peter Hollingsworth for technical assistance and thoughtful comments. We thank the BoEM molecular laboratory (MNHN, Paris) for welcoming us and providing support for the molecular work. Financial support for field and laboratory work was provided by the MNHN ATM "Taxonomie moléculaire: DNA barcode et gestion durable des collections", and grants from Sud Expert Plantes and ANR (EVORANGE 6^{ème} extinction: ANR-09-PEXT-011). This work is part of the @SPEED-ID project entitled "Accurate SPEciEs Delimitation and IDentification of eukaryotic biodiversity using DNA markers" led by F-BoL, the French Barcode of Life initiative.

Partie 2.

Analyses phylogénétiques, diversification et évolution de niches climatiques : l'exemple du clade GDD (*Euphorbia* sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli*)

Chapitre 5

Phylogénie d'*Euphorbia* sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli* à Madagascar

I. Introduction

Au sein du sous-genre *Euphorbia* (clade C sensu Steinmann & Porter 2002), les sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli*, toutes trois endémiques de Madagascar et des îles voisines, forment un clade qui regroupe ca. 91 espèces (123 taxa en comptant les entités infra-spécifiques), ce qui représente environ 70% du nombre total d'espèces d'euphorbes malgaches (fide Haevermans et al. 2009, Dorsey et al. sous presse). Les trois sections de ce clade (clade que nous nommerons par la suite « clade GDD » suivant les initiales des noms des sections qui le composent), ont été formalisées récemment par Dorsey et al. (sous presse) sur la base d'un travail phylogénétique regroupant un échantillonnage représentatif du sous-genre *Euphorbia*.

La section *Goniostema*, la plus connue, essentiellement grâce à des espèces épineuses munies de cyathes colorés, comme *Euphorbia milii*, fait figure de groupe « géant » pour les euphorbes malgaches avec ses 75 taxa (107 avec les entités infra-spécifiques) tous endémiques de la Grande Île, où elle est présente dans chacun des types de végétations existants (fide Haevermans 2009). La section *Denisophorbia* [s. stricto, selon Dorsey et al. (sous presse)], bien moins connue, comprend ca. 13 espèces arborescentes, presque toutes dioïques, plus ou moins succulentes. Elles sont caractérisées par leur port en chandelier, trait architectural unique chez *Euphorbia*, similaire à l'architecture générale des *Terminalia* L. (Combretaceae). Toutes les espèces du groupe sont endémiques de Madagascar et des îles voisines où elles occupent des milieux variés. Enfin, la section *Deuterocalli*, la moins spéciieuse, regroupe 3 espèces arborescentes dioïques caractérisées par des branches chlorophylliennes très succulentes, en forme de pinceau, munies de feuilles succulentes très fugaces. Les espèces de cette section ont une distribution strictement malgache, discontinue, avec des espèces occupant les zones arides du sud, les inselbergs des hauts plateaux, ainsi que l'extrême nord de l'île (Dorsey et al. sous presse).

Au sein du sous-genre *Euphorbia*, le positionnement global du clade GDD est résolu : toutes les études phylogénétiques ont montré une proche parenté entre ce clade et les espèces africaines des sections *Euphorbia*, *Monadenium* et *Rubellae* (sensu Dorsey et al. sous presse ; cf. aussi Steinmann & Porter 2002, Haevermans 2003, Bruyns et al. 2006, Zimmermann et al. 2010, Horn et al. 2012). Plusieurs études phylogénétiques récentes ont montré la monophylie des sections *Deuterocalli* et *Denisophorbia* (Haevermans et al. 2004, Zimmermann et al. 2010, Dorsey et al. sous presse). Les phylogénies déjà publiées, qui présentent des échantillonnages variables des trois sections (au niveau des taxa et des régions de l'ADN échantillonnées), ne permettent néanmoins pas de statuer de façon certaine sur la monophylie de la section *Goniostema* (Tableau IV.1.). Monophylétique pour plusieurs auteurs (Steinmann & Porter 2002, Haevermans et al. 2004, Zimmermann et al. 2010, Bruyns et al. 2011), la section *Goniostema* est paraphylétique pour d'autres (Bruyns et al. 2006, Park & Jansen 2007, Horn et al. 2012). Dorsey et collaborateurs (sous presse) ont montré que la région ITS (génome nucléaire) et les régions *matK* et *ndhF* concaténées (génome chloroplastique) soutenaient des hypothèses phylogénétiques différentes : la section *Gonistotema* est monophylétique avec ITS seul mais paraphylétique lorsque les marqueurs chloroplastiques sont analysés seuls ou concaténés avec ITS (Tableau IV.1.).

Tableau V.1. Tableau résumé des résultats phylogénétiques obtenus au cours de plusieurs études antérieures qui prenaient en compte les sections *Gonistotema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli* dans leurs échantillonnages. Le nombre d'UTOs inclus dans les analyses est indiqué pour chacune des trois sections et pour l'échantillonnage total. Lorsque plusieurs régions de l'ADN ont été utilisées, les nombres s'appliquent à la région figurée en gras.

Publications de référence	Steinmann & Porter (2002)	Haevermans et al. 2004 *	Bruyns et al. 2006	Park & Jansen 2007	Zimmermann et al. 2010	Bruyns et al. 2011	Horn et al. 2012	Dorsey et al. sous presse	Dorsey et al. sous presse	Dorsey et al. sous presse
régions de l'ADN utilisées	ITS / <i>ndhF</i>	ITS	ITS / <i>psbA-trnH</i>	<i>ndhF</i>	ITS / <i>trnL-trnF</i> / combinées	ITS / <i>trnL-trnF</i> / combinées	10 régions combinées	ITS	<i>matK</i> + <i>ndhF</i>	3 régions combinées
Nb UTOs Goniostema / <i>Denisophorbia</i> / <i>Deuterocalli</i>	11 / 3 / 1	34 / 4 / 4	4 / 1 / 1	15 / 1 / 0	40 / 6 / 4	3 / 1 / 1	7 / 1 / 1	19 / 5 / 9	26 / 5 / 5	25 / 6 / 3
Nb UTOs total	216	50	133	91	356	211	176	282	232	311
Monophylie Goniostema	+	+	x	x	+	+	x	+	x	x
Monophylie <i>Denisophorbia</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	x	+
Monophylie <i>Deuterocalli</i>	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+

Il ressort des ces études que : **(1)** le statut phylogénétique de la section *Goniostema* est profondément dépendant de l'échantillonnage taxonomique et moléculaire ; **(2)** la faiblesse relative des échantillonnages déployés à ce jour (à l'exception de l'échantillonnage moléculaire d'Horn et al. 2012) ne permet pas de confirmer avec confiance la monophylie de cette section.

Sur l'ensemble des travaux phylogénétiques cités ci-dessus, peu présentent un échantillonnage taxonomique représentatif de la diversité du groupe, tant au niveau du nombre d'espèce par sections, qu'au niveau de la diversité morphologique ou écologique. Seuls les travaux d'Haevermans et al. (2004), de Zimmermann et al. (2010) et de Dorsey et al. (sous presse) mettent en jeu des échantillonnages taxonomiques plus importants, notamment en ce qui concerne la section *Goniostema* (plus de 20 séquences représentant la section — Tableau IV.1.). Néanmoins, la section *Denisophorbia* reste largement sous-représentée par rapport à sa diversité (nombre d'UTOs²⁵ séquencées < 6) et la diversité intra-spécifique est peu représentée. Les relations de parenté au sein des trois sections, la caractérisation morphologique et écologique des grands clades, et enfin l'évolution des caractères morphologiques restent donc sujettes à controverses. Par ailleurs, l'absence de travaux généraux sur la diversification du genre *Euphorbia* au cours du temps, couplée aux faiblesses de l'échantillonnage, rendent peu pertinentes les études visant à fournir un cadre chronologique à l'histoire évolutive du clade GDD à Madagascar.

Le travail phylogénétique présenté ici a les buts suivants :

(1) Obtenir une phylogénie bien résolue du groupe GDD et de chacune des sections qui le composent. Pour ce faire, afin d'éviter les biais taxonomiques et dans un souci de représentativité, nous avons utilisé le plus large échantillonnage taxonomique jamais rassemblé pour le groupe GDD. Les données moléculaires utilisées pour les études phylogénétiques proviennent au total de 8 régions de l'ADN (ADN chloroplastique et ADN nucléaire), et nous avons pu comparer les topologies obtenues en utilisant chaque région séparément et en combinant les régions.

(2) Tester la monophylie des concepts spécifiques que nous avons utilisé et illustrer la diversité intra-spécifique, lorsque cela était possible. Nous avons donc incorporé plusieurs individus par espèce. Des espèces nouvelles potentielles et des matériels indéterminés ont aussi été pris en compte dans les analyses.

²⁵ UTO(s) : Unité(s) Taxonomique(s) Opérateur(s).

(3) Tenter d'inscrire la phylogénie du groupe GDD dans un cadre chronologique en utilisant des modèles d'horloges moléculaires calibrés à l'aide des travaux réalisés précédemment sur le sujet (Bruyns et al. 2011).

(4) Enfin, à la lumière des résultats phylogénétiques obtenus, discuter la distribution des traits morphologiques et écologiques principaux pour les espèces de ces trois sections.

II. Matériel et Méthodes

1. Echantillonnage taxonomique

Nous avons développé une stratégie d'échantillonnage visant à minimiser les biais potentiels générés par la mauvaise qualité des séquences ou la présence de données manquantes dans les matrices de caractères. Comme cela a été détaillé dans le Chapitre 2, nous disposions d'un échantillonnage total de 636 extraits (dont 550 euphorbes malgaches), pour lesquels 8 régions de l'ADN ont été amplifiées en routine (ITS, ETS, *atpI-atpH*, *psbA-trnH*, *ndhA*, *matK*, *trnQ-5'rps16*, *rbcL* ; voir Chapitre 2 pour les informations sur ces régions et le détail des méthodes d'amplification et de séquençage. Sur ces 636 extraits, 368 (~ 58%) appartiennent au groupe GDD (dont 22 extraits pour la section *Deuterocalli*, 94 pour la section *Denisophorbia* et 252 pour la section *Goniostema*). Ces 368 extraits ont été systématiquement inspectés afin de sélectionner ceux auxquels étaient associées le maximum de régions d'ADN séquencées, si possible de bonne qualité, présentant un lien évident avec un concept taxonomique formel ou un échantillon témoin (« voucher » en anglais). Ont été conservés pour les analyses les matériels pour lesquels nous disposions d'au moins 7 régions sur 8 d'ADN séquencées (et idéalement la totalité). Dans le cas de redondance (individus appartenant à une même espèce *a priori* ou issus d'une même récolte), si les jeux de données étaient de qualité différente (nombre de régions séquencées par individus différents), seuls ceux pour lesquels la totalité des régions était disponible ont été utilisés.

Au final, l'échantillonnage que nous avons constitué pour cette étude comprends 280 extraits qui représentent environ 82 espèces. Avec un total de 2222 séquences (pour les 8 marqueurs), le jeu de données final contient moins d'1% de données manquantes (seulement 18 séquences en tout). Ainsi, nous disposons de la totalité de l'information moléculaire (i.e. les 8 régions de l'ADN sélectionnées) pour 262 échantillons, soit ~ 94% du nombre total d'extraits (voir Annexe V.1.)

Sur ces 280 extraits, 30 (representant 24 espèces) composent le groupe externe. Ces 24 espèces comprennent des euphorbes malgaches et du reste du monde qui appartiennent aux

autres sous-genres du genre *Euphorbia* (à l'exception du sous-genre *Rhizanthium* qui est représenté à Madagascar par la seule *E. antso*). Sur les 250 échantillons de l'intra-groupe, la section *Deuterocalli* est représentée par 12 extraits (2 espèces), la section *Denisophorbia* par 34 extraits (environ 8 espèces) et la section *Goniostema* par 204 extraits (environ 63 espèces). Nous disposons ainsi d'un échantillonnage taxonomique hautement représentatif de la diversité des trois sections, couplé à une importante diversité de marqueurs moléculaire (8 régions de l'ADN, moins de 1% de données manquantes).

2. Méthodes d'alignement, et codage des zones d'inversions et des insertions-délétions

Les séquences ont été obtenues et éditées selon les techniques détaillées dans le matériel et méthode général (Chapitre 2). Pour aligner les régions d'ADN, nous avons suivis les recommandations de plusieurs études qui comparent de façon systématique les algorithmes d'alignements les plus courants (Nuin et al. 2006, Edgar & Batzoglou. 2005, Wilm et al. 2006). Ces travaux ont déterminé que les algorithmes implémentés par les logiciels libres MUSCLE v. 3.8 (Edgar 2004) et MAFFT v. 6 (Katoh et al. 2002) sont *a priori* ceux qui fournissent les meilleurs résultats, notamment lorsque de nombreux indels se retrouvent dans la matrice d'alignement. Les études citées ci-dessus ont remarqué que l'algorithme d'alignement L-INS-i (Katoh et al. 2005) implémenté par MAFFT v. 6 est particulièrement adapté aux matrices présentant des indels nombreux et de grande taille. Au regard des matrices obtenues pour l'ensemble des régions étudiées, qui comportaient une grande quantité d'indels (à l'exception des régions *rbcL* et *matK*), c'est cette dernière stratégie d'alignement qui a été sélectionnée.

Après alignement, les matrices ont été éditées à la main avec le logiciel libre BioEdit v. 7.0.9.0 (Hall 1999) en s'attardant sur les séquences et les portions de séquences qui présentaient une qualité faible.

Une portion de la région chloroplastique *trnQ-5'rps16* présente un indel de plus de 430 paires de bases qui ne concerne aucune des espèces de l'intra groupe et dont l'alignement est ambigu. Afin de ne pas induire de potentiels artefacts de reconstruction phylogénétique et en vu de ne pas rallonger inutilement les recherches phylogénétique, cet indel a été exclu de l'analyse (Tableau V.3.). Il a été possible de détecter dans les régions *psbA-trnH* et *trnQ-5'rps16* des zones où les séquences sont inversées. Ces zones d'inversions sont déjà documentées pour la région *psbA-trnH* (Whitlock et al. 2010, Sang et al. 1997, Bain & Jansen 2006, Jeanson et al. 2011, Aubriot et al. 2013) et pour d'autres régions chloroplastiques non

codantes qui sont le plus souvent associées à des zones de répétitions ou à des séquences palindromes (Kelchner & Wendel 1996, Graham & Olmstead 2000, Catalano et al. 2009, Kim & Lee 2005). Il a été montré que ces inversions peuvent être caractéristiques de certaines espèces et constituer ainsi une aide à l'identification (Jeanson et al. 2011). Mais dans d'autres cas, comme celui des euphorbes malgaches, les inversions ne sont pas spécifiques aux espèces et peuvent être présentes ou absentes dans deux échantillons différents d'un même taxon. Ceci conduit à sur-estimer les distances génétiques intra-spécifiques, ce qui peut avoir un impact non-négligeable sur les inférences phylogénétiques (Whitlock et al. 2010). Il est donc préférable soit d'exclure la zone d'inversion des analyses, soit de *corriger* ces portions de séquences manuellement afin d'obtenir une matrice d'alignement satisfaisante. Nous avons préféré la seconde option car la présence d'évènements de substitution au cœur de la zone d'inversion est potentiellement source de caractères intéressants pour les reconstructions phylogénétiques.

Pour le marqueur *psbA-trnH* la région d'inversion s'étend des bases 82 à 105 de la matrice d'alignement et concerne un grand nombre de taxa (170 présentent la séquence dans un sens, 110 dans l'autre ; Tableau V.3.). Afin de conserver l'information ayant trait au phénomène d'inversion, nous ne nous sommes pas contentés d'inverser les séquences et nous avons mis en place un codage binaire qui permet de la prendre en compte, un sens se voyant assigner l'état 0 et l'autre l'état 1. Lors des analyses partitionnées ce caractère a été traité en commun avec les matrices binaires de codages des indels. Pour la région *trnQ-5'rps16*, l'inversion (bases 563 à 606) ne concerne qu'un seul extrait (Tableau V.3.), un représentant du taxon *E. milii* var. *bevilaniensis* et nous avons donc simplement corrigé l'inversion.

Les indels pouvant être alignés sans ambiguïté, c'est-à-dire ceux qui ne sont pas chevauchants dans la matrice alignée, ont été codés pour chaque matrice en suivant le critère « simple gap coding » de Simmons & Ochoterena (2000) implémenté dans le logiciel libre SeqState v. 1.4.1 (Müller 2006). Les indels n'ont pas été pris en compte pour la région chloroplastique *psbA-trnH*, particulièrement difficile à aligner et très riche en indels ambigus.

3. Analyses séparées des marqueurs

Toutes les régions de l'ADN ont été analysées séparément en Maximum de Vraisemblance (« Maximum Likelihood », ou ML) et en Inférence Bayésienne (« Bayesian Inference », ou IB). Du fait de l'importance de notre jeu de données il était inenvisageable d'analyser nos données sur un ordinateur de bureau traditionnel. Nous avons donc utilisé pour l'ensemble de

nos analyses la plateforme CIPRES Science Gateway v 3.3 (<http://www.phylo.org/index.php/portal/>), un serveur web public qui met à disposition de la communauté des chercheurs les ressources informatiques adaptées à des analyses phylogénétiques de grande taille (cluster TeraGrid, implémentations des versions les plus récentes de la plupart des logiciels d'analyse phylogénétique) (Miller et al. 2010). Le temps d'analyse est néanmoins limité pour chaque utilisateur (168 heure par utilisation), et il a donc fallu prendre en compte cette contrainte lors de nos recherches phylogénétiques.

Les modèles d'évolution nucléotidiques les plus adaptés à chaque région génique ont été choisis en utilisant le critère d'Akaike (AIC) implémenté par le logiciel MrModeltest v. 2.3 (Nylander 2004).

Les Inférences Bayésiennes ont été effectuées à l'aide du logiciel libre MrBayes v. 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001, Ronquist & Huelsenbeck 2003). Au total chaque analyse a été lancée sur 2 recherches phylogénétiques (ou « runs » en anglais) indépendantes, comportant chacun 4 chaînes de Markov (paramétrage des chaînes par défaut : 1 chaîne « froide », 3 chaînes « chaudes »), en utilisant les valeurs par défaut pour l'ensemble des paramètres et une topologie initiale sélectionnée de façon aléatoire. Chacun des « runs » a été effectué sur un nombre variable de générations afin de minimiser le temps d'analyse (i.e. ne pas dépasser le temps limite d'analyse imposé par la plateforme CIPRES) tout en obtenant la convergence des chaînes et la stabilisation des paramètres : soit, après expérimentation, 4×10^7 générations par « run », échantillonnées toutes les 4000 générations pour les marqueurs nucléaires ITS, ETS, *ndhA* et *trnQ-5'rps16* ; 1.5×10^7 générations par « run », échantillonnées toutes les 1500 générations pour les marqueurs chloroplastiques *atpI-atpH*, *psbA-trnH*, *matK* et *rbcL*.

Chaque analyse a été lancée en partitionnant les matrices en 2 jeux de données : le jeu de données moléculaires et le jeu de données d'indels (codage binaire 1-0). Les modèles de substitution nucléotidique sélectionnés par MrModeltest ont été utilisés pour modéliser l'évolution de chaque matrice moléculaire (Tableau V.3.). Les jeux de données d'indels qui répondent à un codage binaire ont suivis le modèle d'évolution caractérisé par « lset nst=1 coding=variable » tel que cela est recommandé par le manuel de MrBayes (<http://mrbayes.sourceforge.net/wiki/index.php/Manual>). Tous les paramètres ont été rendus indépendants entre les deux partitions [commande : « unlink shape=(all) pinvar=(all) statefreq=(all) revmat=(all) »]. Pour l'ensemble des paramètres les taux varient librement et indépendamment les uns des autres [commande : « Prset Applyto=(all) ratepr=variable »].

La convergence des chaînes et la stabilité de tous les paramètres des analyses ont été inspectés en utilisant le programme Tracer v. 1.5 (Rambaut & Drummond 2007). En fonction de la vitesse de la stabilisation des paramètres et de la convergence des chaînes, un certain nombre de générations a été exclu de la construction du consensus majoritaire. De façon générale, les arbres issus du premier dixième de générations pour chaque « run » (i.e. 4×10^6 générations ou 1.5×10^6 générations en fonction du « run »), soit 1000 arbres, ont été considérés comme appartenant à la période dite d'amorçage (ou « burn-in ») et exclus. Pour les régions *atpIatpH*, *psbA-trnH*, *ndhA* et *trnQ-5'rps16*, la stabilité des paramètres et la convergence des chaînes ont été plus longues à être atteintes et il a fallu exclure pour chaque « run » respectivement les 4000, 2500, 4000 et 2000 premiers arbres échantillonnés.

Pour chacun des « runs », les arbres restants ont été utilisés pour calculer le consensus majoritaire. Les nœuds ayant une probabilité postérieure inférieure à 0,5 ne sont pas représentés sur le consensus majoritaire et sont remplacés par une polytomie.

Les recherches en Maximum de Vraisemblance (« maximum likelihood », ou ML) et les analyses de bootstrap ont été effectuées en utilisant le logiciel libre Garli v. 2.0 (Zwickl 2006). Nous avons exclu les matrices d'indels des analyses. En effet, même si Garli v 2.0 permet d'analyser des jeux de données partitionnés et implémente un modèle d'évolution Mkv (Lewis 2001) adapté à l'analyse de données binaires, nous n'avons pas réussi à lancer ces analyses partitionnées sous CIPRES.

Les analyses de ML ont été effectuées en utilisant les mêmes modèles d'évolution que ceux utilisés pour les analyses en Inférence Bayésiennes. Pour chaque marqueur 40 « runs » indépendants ont été lancés et les topologies résultantes des 40 « runs »²⁶ ont été investiguées et comparées en utilisant le logiciel PAUP* 4.b9 PC (Swofford 1998) suivant les conseils fournis dans le manuel de Garli (https://www.nescent.org/wg_garli/Advanced_topics). Pour chaque marqueur, l'arbre phylogénétique le plus vraisemblable issu des 40 « runs » a été sélectionné et a servi de base à la discussion des résultats. Les supports de bootstrap ont été estimés en échantillonnant 500 pseudoréplicats pour chaque analyse. Suivant les recommandations du manuel de Garli, l'arbre de consensus de bootstrap a été calculé à l'aide du programme SumTrees (Sukumaran & Holder 2010) implémenté en Python (package DendroPy). Ce programme permet en outre d'annoter de façon automatique les nœuds des arbres (ou des arbres consensus) obtenus en ML ou en IB en fonction des proportions auxquelles ces nœuds sont retrouvés dans les réplicats de bootstrap échantillonnés. En

²⁶ Chaque « run » sélectionne à la fin de sa recherche la topologie explorée qui est la plus vraisemblable pour les données fournies.

d'autres termes il permet de faire figurer les indices de bootstrap à chaque nœud des arbres issus des recherches de Maximum de Vraisemblance ou d'Inférence Bayésienne.

Finalement nous avons comparé chaque topologie, région par région, en fonction des deux méthodes de reconstruction phylogénétique utilisées. Nous nous sommes basés sur les valeurs de « bootstrap » (*boot*) et de probabilité postérieures (*pp*) aux nœuds pour estimer le soutien statistique de chaque relation de parenté. Les probabilités postérieures en dessous de 0,85 sont considérées comme un faible soutien statistique, entre 0,85 et 0,94 un soutien statistique moyen et au dessus de 0,95 un soutien statistique fort (Swenson et al. 2008). Les valeurs de « bootstrap » en dessous de 50% ne sont pas prises en considération, celles comprises entre 50% et 74% sont considérées comme faible soutien statistique, entre 75% et 89% comme un soutien statistique modéré et au dessus de 90% comme un soutien statistique important. En fonction du soutien statistique de chaque nœud, il est possible d'estimer si les incongruences topologiques éventuelles entre marqueurs sont statistiquement significatives ou non. L'ensemble des topologies a été visualisé et édité à l'aide des logiciels libres TreeGraph2 v 2.0.47 et FigTree v 1.3.1.

4. Traitement des incongruences topologiques

L'observation d'incongruences topologiques entre des phylogénies issues d'analyses de différentes régions de l'ADN est une constante du travail de phylogénie moléculaire (van der Niet & Linder 2008). En réalité, il a été montré que plus l'échantillonnage moléculaire est important, plus la quantité d'incongruences augmente (Rokas et al. 2003). Si ces incongruences sont parfois les résultats d'artefacts non-biologiques comme un échantillonnage taxonomique insuffisant (Stockley et al. 2005), elles peuvent néanmoins décrire des processus biologiques sous-jacents tels que le tri incomplet des lignées (« incomplete lineage sorting ») (Doyle et al. 2004), des transferts horizontaux (Won & Renner 2003) ou des phénomènes d'hybridation (Rieseberg et al. 1996). La mesure des incongruences phylogénétiques est largement effectuée sur la base du test statistique ILD (Incongruence Length Difference) (Farris et al. 1994). Par extension ce test est très souvent utilisé comme critère pour déterminer si des matrices moléculaires issues de différentes régions nucléotidiques sont combinables. Néanmoins, depuis une dizaine d'années, de nombreuses études ont montré que le test ILD présente des biais méthodologiques importants, que son utilisation est sujette à caution et ne doit pas conduire au rejet de la compatibilité des jeux de données (Darlu & Lecointre 2002, Downton & Austin 2002, Barker & Lutzoni 2002,

Yoder et al. 2001). Nous avons donc décidé de ne pas utiliser ce test et de décrire les éventuelles incongruences topologiques de manière qualitative.

5. Analyses combinées des marqueurs et datation moléculaire

Après avoir effectué les analyses marqueur par marqueur et investigué les incongruences éventuelles, nous avons concaténé les marqueurs en plusieurs jeux de données. Les régions nucléaires ITS et ETS ont été combinées en une matrice nucléaire, les marqueurs *atpI-atpH*, *psbA-trnH*, *matK*, *ndhA*, *trnQ-5'rps16* et *rbcL* ont été combinés pour former une matrice chloroplastique, et finalement les 8 régions ont été réunies pour former une matrice présentant toute l'information disponible. Les régions ont été concaténées à l'aide de SequenceMatrix v 1.7.8. (Vaidya et al. 2011), logiciel libre qui réalise un enchaînement automatique des séquences liées à un même échantillon et qui code les séquences absentes en données manquantes (N).

Les régions nucléaires ITS et ETS font parties de la même unité de transcription. Ce ne sont donc pas des régions indépendantes l'une de l'autre (Baldwin & Markos 1998, Swenson et al. 2008). Nous avons décidé de les concaténer et de les considérer comme une seule et même région (i.e. pas de partition par marqueur). MrModeltest assigne à ces deux régions le même modèle d'évolution nucléotidique, GTR + I + Γ (Tableau V.3.), et il a donc été utilisé pour modéliser l'évolution de la matrice concaténée. Les matrices d'indels ont été concaténées en une partition et ont suivi le même modèle d'évolution que celui attribué aux matrices d'indels précédemment (pour l'analyse en Inférence Bayésienne) (Tableau V.3.). Les analyses sous MrBayes ont été lancées suivant les paramètres suivants : 2 « runs » comportant chacun 4 chaînes ; 3×10^7 générations échantillonnées tous les 3000 générations ; « burnin » représentant 10% du nombre total d'arbre (soient 1000 arbres). Les analyses avec Garli ont été effectuées en utilisant les mêmes paramètres que pour les analyses lancées pour chaque région de l'ADN, suivant le même modèle d'évolution nucléotidique que celui utilisé pour les analyses bayésiennes.

Pour les matrices chloroplastiques et la matrice combinée totale, les Inférences Bayésiennes n'ont pas été lancées sous MrBayes. En effet, nous n'avons pas réussi à réunir une puissance computationnelle suffisante pour faire tourner MrBayes dans un temps raisonnable et pour un nombre de générations satisfaisant : avec un nombre de génération $\sim 4 \times 10^7$ nous excédions les 168 heures de temps allouées par CIPRES et nous n'obtenions pas la stabilité des paramètres.

Afin de remédier à ce problème, nous avons utilisé le logiciel BEAST v 1.7.2 (Drummond et al. 2012) qui implémente lui aussi les Inférences Bayésiennes et qui nous a permis d'obtenir des résultats satisfaisants pour un nombre de générations plus important. Nous allons détailler ci-dessous les différents paramètres d'analyse phylogénétique que nous avons édités au moyen de l'interface graphique Beauti v 1.7.2 (Drummond et al. 2012). Nous avons optimisé d'une part le nombre de partitions et d'autre part le nombre de générations explorées par les chaînes de Markov afin de répondre aux contraintes temporelles et à la nécessité d'obtenir la convergence des chaînes et la stabilité des paramètres.

Le jeu de données a été partitionné de la façon suivante : les marqueurs nucléaires ITS et ETS, régions physiquement contiguës dans le génome, ont été analysés ensemble et traités comme une seule partition (de manière similaire au traitement effectué pour la matrice nucléaire). Les régions chloroplastiques ont été partitionnées suivant les modèles d'évolution nucléotidique qui leur étaient associés par MrModeltest (Tableau V.3.). Ainsi les régions *atpI-atpH* et *rbcL* (suivant respectivement les modèles d'évolution GTR + I + Γ et GTR + I) correspondent à deux partitions chacune. De la même manière, les 4 régions *psbA-trnH*, *matK*, *ndhA*, et *trnQ-5'rps16* ont été réunies dans une même partition (caractérisée par le modèle d'évolution nucléotidique GTR + Γ). Nous n'avons pas trouvé de manière satisfaisante de prendre en compte les données binaires (indels) sous BEAST et nous les avons donc exclues de l'analyse. Au final, la matrice chloroplastique se compose de 3 partitions et la matrice totale de 4 partitions (Tableau V.2.). Les paramètres des modèles d'évolution appliqués à chaque partition ont été rendus indépendants les uns des autres (commande « Unlink Subst. Models »).

Informations relatives aux matrices partitionnées	Analyse des 8 loci concaténés (Beast, Garli)				
	6 loci chloroplastiques (Beast, Garli)			2 loci nucléaires (MrBayes, Garli)	
Partition	Partition 1	Partition 2	Partition 3	Partition 4	Partition 5
Marqueurs par partition	<i>atpI-atpH</i>	<i>matK</i> , <i>psbA-trnH</i> , <i>ndhA</i> , <i>trnQ-5'rps16</i>	<i>rbcL</i>	ITS, ETS	indels ITS & ETS
Modèle de substitution nucléotidique sélectionné suivant le critère d'Akaike	GTR+I+ γ	GTR+ γ	GTR+I	GTR+I+ γ	Mkv

Tableau V.2. Détails des partitionnements effectués pour les analyses combinées. Les modèles d'évolutions nucléotidiques implémentés pour chacune des partitions sont indiqués.

Le logiciel BEAST permet de coupler la recherche de la topologie la plus vraisemblable et la datation de chaque nœud de la topologie en utilisant un modèle d'horloge moléculaire (qui peut être « strict » ou « relâché ») et un (ou des) point(s) de calibration(s) *a priori*.

Compte tenu de la pauvreté du répertoire fossile chez *Euphorbia* (Bruyns et al. 2011) et vu la faiblesse de l'échantillonnage taxonomique hors de l'intra-groupe, nous avons limité la calibration de l'analyse à deux points de calibration secondaires. Ces deux points sont issus du seul essai de datation publié pour le genre *Euphorbia*, celui de Bruyns et al. (2011), qui analysent un échantillonnage représentatif des espèces d'euphorbes de l'Ancien Monde. Cette étude utilise plusieurs points de calibration : la divergence entre les genres *Linum* L. + *Reinwardtia* Dumort. (Linaceae) et *Euphorbia* (Wikström et al. 2001, Davis et al. 2005) ; l'âge le plus ancien du fossile *Crepetocarpon perkinsii* (Dilcher & Manchester 1988) pour fournir un âge minimum de 40 Ma au nœud obtenu en incluant deux représentants du genre *Homalanthus* A. Juss. (Euphorbioideae-Hippomaneae) aux analyses moléculaires (plus précisément les espèces *H. populifolius* Graham et *H. populneus* Kuntze) ; l'âge maximum des Îles Canaries, 20.6 millions d'années (Carracedo et al. 1998). Nous nous sommes basés sur les estimations des âges de deux nœuds fournies par Bruyns et al. (2011) pour calibrer secondairement notre analyse. Pour l'un il s'agit du nœud caractérisant le sous-genre *Euphorbia* L. (clade C sensu Bruyns et al. 2011) : Age moyen = 29,94 Ma ; Ecart Type = 0,4336 ; intervalle de confiance à 95% (95% HDP) = 22,49–39,56. Pour l'autre il s'agit du nœud de l'intra-groupe, i.e. du groupe GDD (section *Goniostema* sensu Bruyns et al. 2011) : Age moyen = 12,65 Ma ; Ecart Type = 0,3216 ; 95% HDP = 7,099–19,62. Les distributions suivant une loi normale sont considérées comme les mieux adaptées aux méthodes de calibrations secondaires, car reflétant l'incertitude inhérente aux points de calibration secondaire (Couvreur et al. 2008, Ho 2007, Bergh & Linder 2009, Su & Saunders 2009). Nous avons donc attribué une distribution normale *a priori* aux deux points de calibrations secondaires que nous avons définis de façon à recouper les intervalles de confiances à 95% proposés par Bruyns et al. (2011) : MRCA (« Most Recent Common Ancestor ») du clade C : Age moyen = 29,94 Ma ; 95% HDP = 22,49–37,39 Ma ; MRCA du groupe GDD : Age moyen = 12,65 Ma ; 95% HDP = 7,715–17,58 Ma.

Un modèle d'horloge moléculaire relâchée à distribution log-normale non corrélée (« un-correlated log-normal distribution », ou UCLD) a été utilisé pour permettre la variation des taux d'évolution de façon indépendante entre les lignées suivant une distribution log-normale (Drummond et al. 2006).

Le modèle de spéciation de Yule (1925) a été spécifié et la topologie initiale a été générée de façon aléatoire. Le modèle de Yule suppose un taux de spéciation constant pour chaque lignée ; il est recommandé pour les topologies retraçant les liens de parenté au niveau spécifique (Drummond et al. 2007).

Pour chaque matrice concaténée, 3 « runs » ont été lancés sur 8×10^7 générations chacun et échantillonnés toutes les 4000 générations en utilisant le cluster CIPRES. Comme pour les analyses des marqueurs séparés, la convergence des chaînes et la stabilité de tous les paramètres des analyses ont été inspectées en utilisant le programme Tracer 1.5 (Rambaut & Drummond 2007). Certains des paramètres ne présentent une stabilité apparente qu'à partir des 10-20 millièmes générations et nous avons donc décidé d'exclure de l'analyse les arbres issus des 20 premières millions de générations, soient 5000 arbres (« burnin » de 25%). Les topologies issues de ces « runs » ont été concaténées (après « burnin ») en utilisant le logiciel LogCombiner v 1.7.2 (Drummond et al. 2012). Les topologies échantillonnées ont ensuite été utilisées pour calculer, à l'aide du logiciel TreeAnnotator v 1.7.2 (Drummond et al. 2012), l'arbre consensus présentant les clades les plus crédibles (« maximum clade credibility tree ») et les paramètres d'intérêts tels que les âges moyens des nœuds (« heights »), les intervalles de confiance de datation des nœuds (« 95% HPD »), les probabilités postérieures aux nœuds (« posterior ») et les taux d'évolution moyens pour chaque lignée (« rate »).

Les analyses en Maximum de Vraisemblance (Garli) ont été effectuées en partitionnant le jeu de données de la même façon que pour les analyses sous BEAST (i.e. trois partitions pour la matrice chloroplastique, quatre partitions pour la matrice totale), en précisant les mêmes modèles d'évolution nucléotidiques. Le paramétrage des analyses (nombre de « runs », nombre de réplicats de « bootstrap ») est pour le reste similaire à celui effectué pour les analyses Garli décrites précédemment.

L'édition et la comparaison des topologies obtenues ont été réalisées de façon analogue à ce qui a été présenté pour les analyses des marqueurs pris séparément. Les topologies consensus obtenues avec l'algorithme BEAST sont des arbres phylogénétiques qui illustrent les clades présentant la meilleure crédibilité statistique. À ce titre, contrairement aux topologies obtenues avec MrBayes, les arbres consensus sont complètement résolus, i.e. les nœuds dont le soutien statistique (pp) est inférieur à 0,5 sont représentés. Les nœuds pour lesquels $boot < 50\%$ et $pp < 0,5$ ne sont pas considérés comme résolus (i.e équivalent à une polytomie).

6. Détermination de la zone bioclimatique occupée par les euphorbes du clade GDD

Les informations concernant les zones de distribution des espèces acquises suivant la méthode rappelée dans le Chapitre 2 ont été combinées à la cartographie des grandes régions bioclimatiques de Madagascar (Cornet 1974). Il a ainsi été possible de déterminer la zone bioclimatique caractéristique de chacune des espèces et de mettre ainsi en relation les résultats phylogénétiques avec l'occupation des zones bioclimatiques malgaches (Figure 7. a, b, c).

III. Résultats

Les données statistiques concernant chaque région et chaque matrice concaténée sont fournies dans le Tableau V.3. Les marqueurs nucléaires ITS et ETS présentent la plus grande variabilité nucléotidique avec des proportions de sites variables et de sites potentiellement informatifs pour la parcimonie supérieures à 50%. Les marqueurs chloroplastiques sont moins variables et possèdent, pour la majeure partie, moins de 25% de sites potentiellement informatifs. Néanmoins, deux de ces marqueurs, *psbA-trnH* et *trnQ-5'rps16*, montrent des proportions de sites variables

Informations relatives aux matrices de caractère	Régions chloroplastiques						Régions nucléaires				
	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>psbA-trnH</i>	<i>atp1-atpH</i>	<i>ndhA</i>	<i>trnQ-5'rps16</i>	6 loci chloroplastiques	ITS1 + 5.8S + ITS2	ETS	2 loci nucléaires	8 loci
Nb de séquences par région (1280)	279	280	280	280	279	272	280	280	272	279	279
Caractères exclus des analyses	-	-	-	-	-	484	484	-	-	-	484
Inversions détectées et traitées (nb séquences concernées / taille des Inversion)	-	-	1 inversion (170 séquences / 24 pb)	-	-	1 inversion (1 séquence / 36 pb)	-	-	-	-	-
Tailles des séquences alignées	825	1145	1409	1309	1459	873	7320	734	453	1187	8507
Nb de sites variables (proportion)	215 (26.1%)	120 (10.5%)	438 (31.1%)	320 (24.4%)	367 (25.2%)	288 (33%)	1748 (23.9%)	409 (55.7%)	321 (70.9%)	730 (61.5%)	2478 (29.1%)
Nb de caractères informatifs en Parcimonie (proportion)	151 (18.3%)	86 (7.5%)	309 (21.9%)	223 (17.0%)	624 (42.8%)	221 (25.3%)	1254 (17.1%)	380 (51.8%)	285 (62.9%)	665 (56.0%)	1919 (22.6%)
Nb d'indels codés	2	-	-	16	35	11	-	36	25	61	-
Modèle de substitution nucléotidique sélectionné suivant le critère d'Akaike	GTR+Y	GTR+I	GTR+Y	GTR+I+Y	GTR+Y	GTR+Y	-	GTR+I+Y	GTR+I+Y	-	-

Tableau V.3. Résumé des caractéristiques des huit régions nucléotidiques utilisées dans cette étude. Les caractéristiques des matrices résultantes de la combinaison des régions chloroplastiques et nucléaires sont également indiquées.

supérieurs à 30% et la région *ndhA* se distingue par son important taux de sites potentiellement informatifs (ca. 40%). Tous les arbres phylogénétiques consensus obtenus pour chacun des marqueurs sont disponibles en Annexe (Annexe V.2.). Les valeurs de probabilité postérieure et de bootstrap à chaque nœud sont fournies.

1. Régions chloroplastiques : *rbcL*, *matK*, *psbA-trnH*, *atpI-atpH*, *ndhA*, *trnQ-5'rps16*

Quelle que soit la région analysée et la méthode de reconstruction phylogénétique utilisée, les arbres obtenus indiquent que le groupe GDD est monophylétique. Cette monophylie est statistiquement soutenue dans tous les cas ($67\% < boot < 95\%$; $pp = 1$), à l'unique exception des analyses de bootstrap de la région *rbcL* (Figure V.3.). Ce clade GDD est toujours placé en groupe frère d'un clade formé d'espèces de l'Ancien Monde appartenant aux sections *Euphorbia* et *Monadenium* (sous-genre *Euphorbia*). Cette relation est toujours fortement soutenue ($92\% < boot < 100\%$; $pp = 1$), à l'exception des topologies obtenues avec le marqueur *matK* qui présentent une irrésolution des liens de parenté entre le groupe GDD et les sections *Euphorbia* et *Monadenium* (Figure V.1.).

La section *Deuterocalli* est toujours monophylétique, bien que le support ne soit pas toujours fort ($52\% < boot < 100\%$; $0,8 < pp < 1$). Elle ne présente pas de résolution interne pour les marqueurs *rbcL* et *matK* (Figure V.1, 3), tandis que les 4 autres marqueurs fournissent une meilleure résolution mais incongruente : *Euphorbia alluaudii* est paraphylétique pour les régions *psbA-trnH* et *atpI-atpH*, alors qu'elle est monophylétique pour les marqueurs *ndhA* et *trnQ-5'rps16*. De manière générale, les relations de parenté au sein des sections *Denisophorbia* et *Goniostema* sont faiblement résolues et les espèces de ces sections se retrouvent en polytomie. Aucune des régions investiguées ne résout de façon statistiquement soutenue les relations de parenté entre la section *Deuterocalli* et les espèces des sections *Denisophorbia* et *Goniostema*. L'histoire évolutive des trois sections est irrésolue ou peu soutenue et il n'est donc pas possible de statuer sur la monophylie ou la paraphylie des sections *Goniostema* et *Denisophorbia*. Nous allons détailler et discuter ci-dessous les principaux clades décrits au sein du groupe GDD pour chaque région chloroplastique étudiée.

Pour *matK*, la topologie générale du clade GDD (Figure V.1.) peut être divisée en trois parties : deux grades formés d'espèces des trois sections qui divergent en premier, et un grand clade qui ne comprend que des espèces de la section *Goniostema*. Nous nommerons les deux grades **A** et **B** (**grade A** et **grade B**) et le clade sera nommé **clade A**. Le grade le plus divergent, le **grade A** (43 échantillons), comprend uniquement des espèces de la section

Goniostema qui sont caractérisées par leur grande diversité morphologique et leur habitat, réduit à la zone nord de Madagascar (à l'exception d'*Euphorbia francoisii* et d'*E. milii* var. *bevilanensis*). Le **grade B** (57 échantillons) groupe ensemble les membres de la section *Deuterocalli*, quelques espèces de la section *Goniostema* du nord de la Grande Île (e.g. *E. viguieri*, *E. boissieri*) et toutes les espèces de la section *Denisophorbia*. Le **clade A** (150 échantillons), faiblement soutenu ($pp = 0.63$) et dont la position phylogénétique n'est pas résolue, regroupe toutes les autres espèces de la section *Goniostema*. Au sein des **grades A** et **B** et du **clade A**, on retrouve des sous-clades de taille plus modeste, statistiquement soutenus, et qui regroupent plusieurs espèces. Afin de discuter la composition et la position phylogénétique de ces sous-clades pour la topologie *matK* (mais aussi pour celles issues des analyses des autres régions de l'ADN) nous allons les caractériser et les nommer (voir Figure V.1.). Le **clade B** (10 échantillons, situé à l'intérieur du **grade A**), regroupe quatre espèces arbustives et arborescentes de la section *Goniostema* de la zone humide à l'est de Madagascar (*Euphorbia mangelsdorffii*, *E. thuarsiana*, *E. robivelonae*, *E. geroldii*) ($boot = 61\%$; $pp = 0.88$).

Le **clade C** (5 échantillons, placé dans le **grade B**), est composé d'une espèce de la sect. *Goniostema* (*E. primulifolia* var. *primulifolia*) et de deux espèces de la section *Denisophorbia* (*E. rangovalensis* et *E. hedyotoides*) ($pp = 0,63$).

Le **clade D** (8 échantillons, situé à l'intérieur du **grade B**), est constitué de deux espèces de la section *Goniostema* (*E. viguieri* et *E. guillaminiana*) et d'une espèce de la section *Denisophorbia* (*E. bongolavensis*) ($boot = 58\%$; $pp = 0,98$).

Le **clade E** (27 échantillons, placé au sein du **grade B**) regroupe presque tous les taxa de la section *Denisophorbia* ($boot = 53\%$; $pp = 0,92$).

Le **clade F** (11 échantillons, situé dans le **clade A**) concentre 5 espèces de la section *Goniostema* naines et monocaulées de l'ouest de Madagascar (*E. cremersii*, *E. moratii*, *E. paulianii*, *E. pedilanthoides*) ($boot = 64\%$; $pp = 0,95$).

Le **clade G** (20 échantillons, placé dans le **clade A**), dans lequel on retrouve des espèces naines et buissonnantes de l'est et du sud de Madagascar (*E. cylindrifolia*, *E. capsaintemariensis*, *E. decaryi*, *E. tardieuana*, *E. waringiae*, *E. ambovombensis*, *E. berorohae*, *E. analavelonensis*) ($boot = 54\%$; $pp = 0,93$).

Le **clade H** (71 échantillons, situé à l'intérieur du **clade A**) qui est composé d'un grand nombre d'espèces appartenant aux régions des hauts plateaux (e.g. *E. horombensis*, *E. milii* var. *longifolia*) et de la zone sub-aride au sud de l'île (e.g. *E. beharensis*, *E. croizatii*) ($boot = 50\%$; $pp = 0,93$).

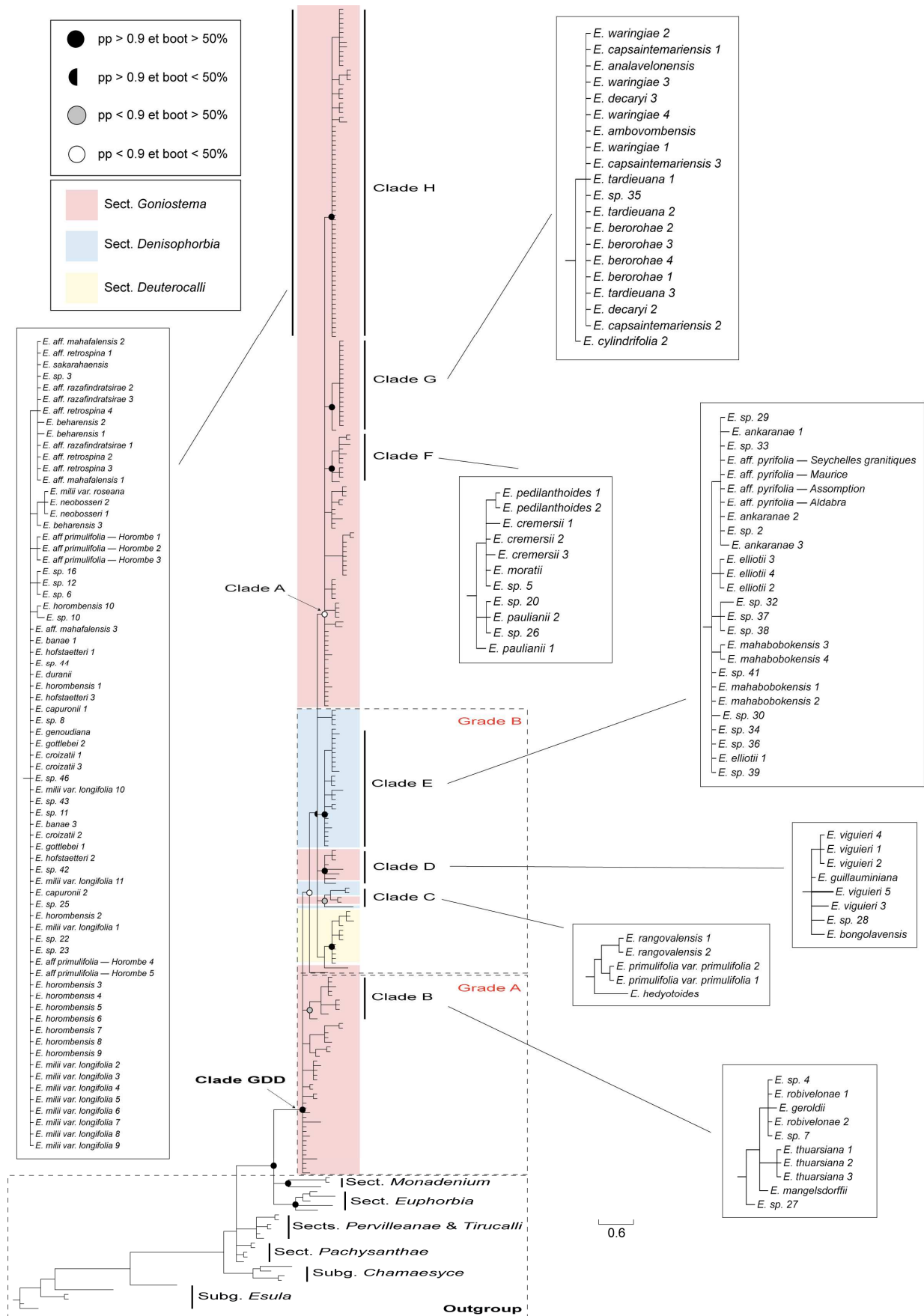


Figure V.1. Résumé de l'arbre de consensus majoritaire (« 50%-majority rule ») des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne (MrBayes) du marqueur *matK*. Seul les soutiens (*pp* et *bootstrap*) des nœuds basaux des clades décrits dans le manuscrit sont renseignés.

Avec deux grands grades et un grand clade, le découpage de la topologie obtenue avec la région *atpI-atpH* (Figure V.2.) est analogue à celui de l'arbre phylogénétique issu de l'analyse de *matK*. On distingue deux grades qui ont, à eux deux, la même composition spécifique que les **grades A** et **B** de *matK*. Mais contrairement aux résultats obtenus avec *matK*, la section *Deuterocalli* et quelques espèces de la section *Denisophorbia* se situent ici dans le **grade A**. Néanmoins, comme pour la phylogénie en *matK*, la majeure partie des espèces de la section *Denisophorbia* (**clade E**) se situe dans le **grade B** et presque toutes les espèces de la section *Goniostema* sont placées dans le **grade A**. Cette incongruence est cependant faiblement soutenue. On retrouve à l'identique le **clade A** observé avec *matK*, mais avec un meilleur soutien statistique (*boot* = 85% ; *pp* = 1). À quelques taxa près on retrouve les clades observés avec le marqueur *matK* : le **clade B**, à l'exception d'un échantillon (« *Euphorbia* sp. 27 ») (*boot* = 60% ; *pp* = 1) ; le **clade D** (cette fois appartenant au **grade A**), à l'exception d'*E. bongolavensis* (*boot* = 81% ; *pp* = 1) ; le même **clade E**, statistiquement mieux soutenu (*boot* = 92% ; *pp* = 1) ; une partie du **clade F** (*boot* = 85% ; *pp* = 1) qui s'inscrit dans un clade de plus grande taille (*pp* = 0,87) ; le **clade G** dans son intégralité (*boot* = 80% ; *pp* = 1) ; et le même **clade H** (*pp* = 0,91) dont la résolution interne est meilleure qu'avec *matK* (Figure V.1.). Les échantillons du **clade C** sont placés ici en polytomie au sein du **grade B**. L'histoire évolutive fournie par la région *atpI-atpH* est similaire à celle décrite par la région *matK*, les quelques incongruences n'étant pas soutenues. Les relations de parenté obtenues par *atpI-atpH* présentent en général une résolution plus importante et un meilleur soutien statistique.

La topologie obtenue avec le marqueur *ndhA* (Figure V.2.) présente elle aussi un squelette général composé de deux grades et d'un clade de grande taille. Les **grades A** et **B** présentent la même composition en espèce que pour la topologie obtenue avec la région *atpI-atpH*. Le **clade A** se retrouve à l'identique (*pp* = 1), ainsi que presque tous les clades décrits précédemment : le **clade B** (*boot* = 64% ; *pp* = 1) ; le **clade C** (*boot* = 57% ; *pp* = 0,98) ; le **clade D** à l'exception d'*Euphorbia bongolavensis* (*boot* = 92% ; *pp* = 1) ; le **clade E** (*boot* = 96% ; *pp* = 1) ; le **clade F** (*pp* = 0,95) ; le **clade G** (*boot* = 76% ; *pp* = 1) ; le **clade H** (*pp* = 0,56) qui incorpore 7 échantillons supplémentaires par rapport aux topologies *atpI-atpH* et *matK*. Avec d'autres espèces, les **clades G** et **H** forment au sein du **clade A** un grand clade soutenu (*boot* = 52% ; *pp* = 1). La phylogénie obtenue avec *ndhA* est donc très comparable à celle obtenue avec la région *atpI-atpH* à la différence près que le nœud du clade regroupant le **grade B** et le **clade A** est statistiquement soutenu (*pp* = 0,97), ce qui constitue un point d'incongruence avec la phylogénie en *matK*.

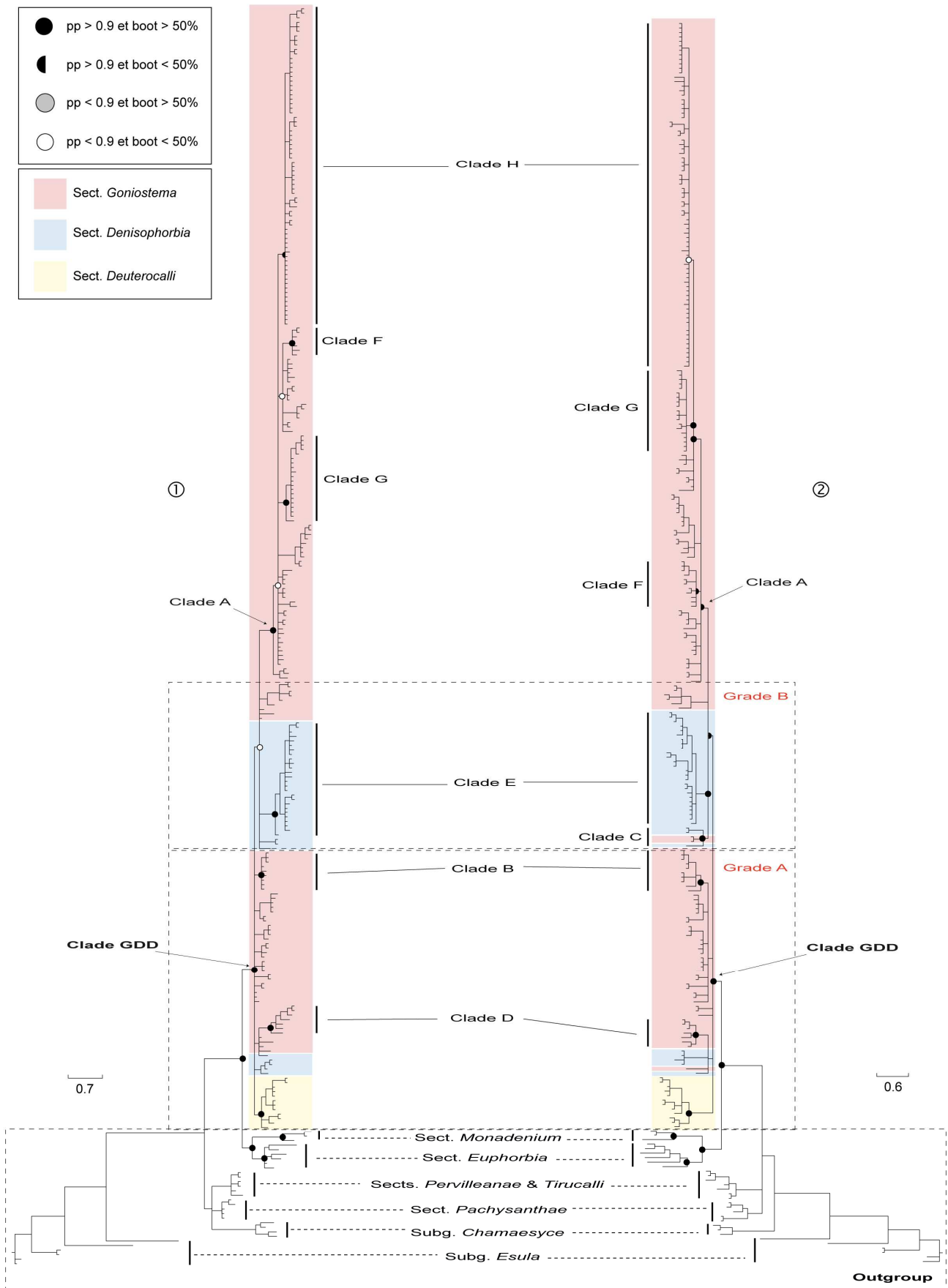
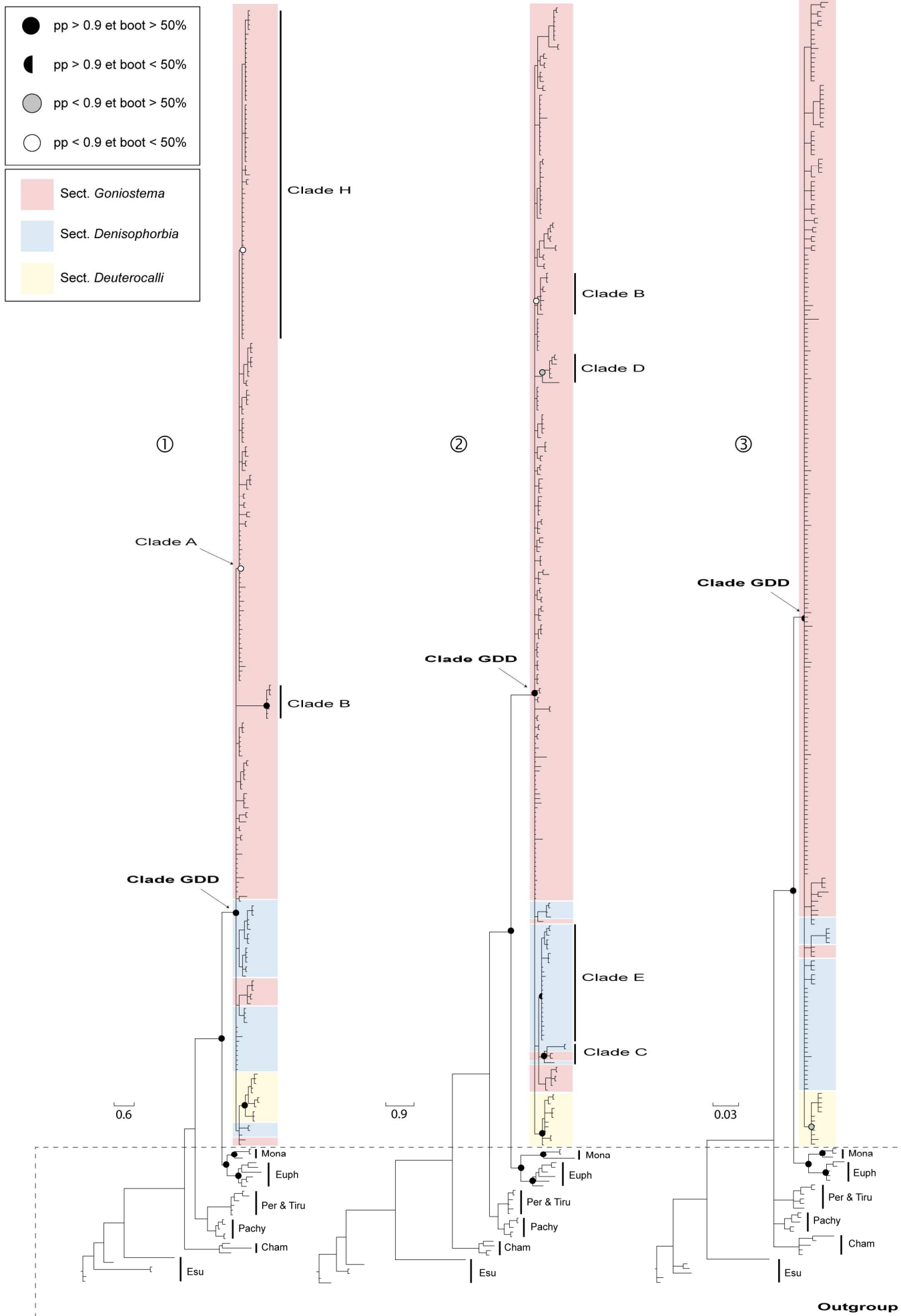


Figure V.2. Résumés des arbres de consensus majoritaire (« 50%-majority rule ») des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne (MrBayes) : ① du marqueur *atpI-atpH* ; ② du marqueur *ndhA*. Seul les soutiens (*pp* et *bootstrap*) des nœuds basaux des clades décrits dans le manuscrit sont renseignés.

Les topologies générées par les régions *trnQ-5'rps16*, *psbA-trnH* et *rbcL* sont moins résolues que les précédentes (Figure V.3.).

Pour *trnQ-5'rps16* le clade GDD se présente sous la forme d'un grand grade qui regroupe le **grade A** et le **grade B**, ainsi que d'un grand clade, le **clade A**. Moins soutenu ($pp = 0.57$) qu'avec les trois marqueurs précédents ; le **clade A** présente aussi une plus faible résolution interne. De manière générale, les clades qui étaient bien soutenus dans les analyses basées sur les marqueurs *matK* ou *atpI-atpH* sont éclatés en de multiples petits clades avec *trnQ-5'rps16*. On y retrouve néanmoins le **clade H** dans son intégralité ($pp = 0.51$) et le **clade B** à l'exception d'*Euphorbia mangelsdorfii* et de « E. sp. 27 » ($boot = 99\%$; $pp = 1$). Les arbres fournis par les régions *rbcL* et *psbA-trnH* sont des polytomies générales. Elles ne résolvent aucun des liens de parenté, à l'exception de quelques petits clades, qui constituent en majorité soit des sous-clades intra-espèces, soit des sous-clades inter-espèces peu soutenus. Néanmoins on retrouve pour la région *psbA-trnH*, circonscrits à l'identique, le **clade B** ($pp = 0,61$), le **clade C** ($boot = 66\%$; $pp = 1$) et le **clade E** ($pp = 0,92$). Le **clade D** est aussi présent mais il exclut *E. bongolavensis* ($boot = 77\%$; $pp = 0,5$).

En conclusion, les régions chloroplastiques prises séparément n'apportent que peu de résolution au squelette phylogénétique du clade GDD. Si les membres de la section *Deuterocalli* forment un groupe monophylétique, il n'est pas possible de statuer de façon définitive sur la monophylie des sections *Goniostema* et *Denisophorbia*. Néanmoins quelques clades se retrouvent de manière statistiquement soutenue dans les topologies les plus résolues (en partie seulement pour celles moins résolues, issues des marqueurs *trnQ-5'rps16*, *rbcL* et *psbA-trnH*). Toutes les phylogénies partiellement résolues (*matK*, *atpI-atpH*, *ndhA* et *trnQ-5'rps16*) suggèrent la même architecture en deux parties pour le clade GDD : un ou deux grands grades composés des espèces des sections *Denisophorbia* et *Deuterocalli* ainsi que de quelques espèces de la section *Goniostema* provenant toutes de la partie nord de la Grande Île (à l'exception d'*Euphorbia francoisii* et d'*E. milii* var. *bevilanensis*) ; un grand clade (**clade A**) regroupant uniquement les autres espèces de la section *Goniostema*. La composition taxonomique des grades basaux varie de l'analyse d'une région chloroplastique à l'autre alors que le **clade A** recouvre toujours la même étendue taxonomique. Les clades de petite taille décrits ci-dessus se retrouvent en partie ou en totalité dans les arbres de la majorité des régions investiguées. La monophylie statistiquement bien soutenue du **clade E** (*matK*, *atpI-atpH*, *ndhA* et *psbA-trnH*) et dans une moindre mesure du **clade C** (*matK*, *ndhA*, *psbA-trnH*) suggèrent la paraphylie des sections *Denisophorbia* et *Goniostema*.



← **Figure V.3.** Résumés des arbres de consensus majoritaire (« 50%-majority rule ») des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne (MrBayes) : ① du marqueur *trnQ-5' rps16* ; ② du marqueur *psbA-trnH* ; ③ du marqueur *rbcL*. Mona = sect. *Monadenium*, Euph = sect. *Euphorbia*, Per = sect. *Pervilleanae*, Tiru = sect. *Tirucalli*, Pachy = sect. *Pachysanthae*, Cham = subg. *Chamaesyce*, Esu = subg. *Esula*. Seul les soutiens (*pp* et *bootstrap*) des nœuds basaux des clades décrits dans le manuscrit sont renseignés.

Si l'on observe une résolution partielle des liens de parenté entre espèces, particulièrement dans le cadre des nœuds les plus récents (ou externes), les relations entre les grands clades (i.e les nœuds les plus internes) sont en général soit non résolues, soit non soutenues statistiquement. Il est intéressant de remarquer que parmi les huit marqueurs étudiés, l'intron *ndhA* fournit les hypothèses phylogénétiques les plus résolues et les plus soutenues. Ceci est à mettre en parallèle avec le taux de caractères informatifs en parcimonie, particulièrement important pour les marqueurs chloroplastiques (~ 40%) (Tableau V.2.). Nous avons concaténé les 6 régions chloroplastiques afin de déterminer si la combinaison des informations de ces régions permet d'obtenir une phylogénie chloroplastique mieux résolue.

2. Analyse combinée des marqueurs chloroplastiques

La concaténation des marqueurs chloroplastiques permet d'obtenir une topologie (Figure V.4.) disposant d'une meilleure résolution que lors des analyses séparées. La monophylie du groupe GDD et de la section *Deuterocalli* d'une part, et la relation de parenté entre le groupe GDD et le clade formé par les espèces des sections *Euphorbia* et *Monadenium* d'autre part, disposent d'un meilleur soutien statistique (*boot* = 100% ; *pp* = 1 pour chacune des relations citées ci-dessus). Les sections *Goniostema* et *Denisophorbia* sont paraphylétiques, et cette paraphylie est statistiquement soutenue. Le squelette phylogénétique du groupe GDD est mieux résolu que lorsqu'une seule région chloroplastique est prise en compte. Aussi, les relations de parenté entre les clades basaux sont élucidées.

Les cinq clades les plus divergents ne comportent que des espèces qui appartiennent aux **grades A** et **B** des arbres obtenus avec les marqueurs chloroplastiques analysés séparément. Nous les décrirons ici de bas en haut sur la Figure V.4. Le clade le plus basal ne comprend que deux espèces de la section *Goniostema*, *Euphorbia hermanschwarzii* et *E. pachypodioides* (*boot* = 70% ; *pp* = 1). Son positionnement en tant que clade frère de toutes les autres espèces du groupe GDD est faiblement soutenu (*boot* = 67% ; *pp* = 0,6). Le deuxième clade (*boot* = 70% ; *pp* = 1), de plus grande taille (35 échantillons), ne comprend que des espèces appartenant à la section *Goniostema*, en incorporant notamment le **clade B** (*boot* = 79% ; *pp* = 1) et neuf autres espèces (viz *E. ambarivatoensis*, *E. ankarensis*, *E. alfredii*, *E. bulbispina*, *E. capmanambatoensis*, *E. iharanae*, *E. leuconeura*, *E. millotii*, et *E. neohumbertii*). Le troisième

clade (*boot* = 59% ; *pp* = 1) regroupe *E. boissieri*, *E. martinae* et les membres du **clade D** (*boot* = 65% ; *pp* = 0,99). Le quatrième clade correspond à la section *Deuterocalli*. À l'intérieur de ce clade, les 9 échantillons d'*E. alluaudii* forment un groupe monophylétique (*boot* = 91% ; *pp* = 1). Le cinquième et dernier clade (*boot* = 84% ; *pp* = 1) comprend le **clade C** (*boot* = 100% ; *pp* = 1) et les membres du **clade E** (*boot* = 100% ; *pp* = 1), ainsi que les représentants de l'espèce *E. francoisii* et une entité assignée à *E. milii* var. *bevilaniensis* qui sont les seuls taxa de ces cinq clades basaux qui ne sont pas originaires de la zone nord de Madagascar. Ce dernier clade est en position soeur d'un grand clade statistiquement bien soutenu qui regroupe l'ensemble des espèces du **clade A** (*boot* = 100% ; *pp* = 1). La topologie générale du **clade A** est en partie résolue mais le soutien statistique des clades décrits varie de façon importante. Nous ne décrirons pas en détail la topologie du **clade A** mais nous renseignerons ci-dessous la monophylie et le positionnement relatif de chacun des sous-clades de petite taille précédemment mentionnés au sein du **clade A** obtenu dans les analyses séparés. Le **clade F** (*boot* = 84% ; *pp* = 1) est intégré dans le premier grand clade divergent mais cet appariement n'est pas soutenu statistiquement (*boot* < 50% ; *pp* < 0,5). Le **clade G** (*boot* = 97% ; *pp* = 1) correspond au deuxième clade qui diverge ; il est directement apparenté à un autre clade dans lequel on retrouve un sous-clade de petite taille (10 UTOs dont *Euphorbia kondoi*, *E. rossii* et *E. berevoensis*) et un deuxième sous-clade de plus grande taille qui correspond au **clade H** (*boot* = 93% ; *pp* = 1) entre lesquels viennent s'intercaler plusieurs taxa. Les relations de parenté à l'intérieur de ce **clade H** sont en général faiblement résolues et nous ne les discuterons pas.

Au final, lorsque toutes les données chloroplastiques dont nous disposons sont concaténées, la résolution des nœuds basaux de la phylogénie est améliorée et la paraphylie des sections *Denisophorbia* et *Goniostema* est statistiquement soutenue. Les clades précédemment définis par les analyses séparées sont retrouvés et disposent tous d'un meilleur soutien statistique. Néanmoins, leurs positions phylogénétiques, bien que mieux résolues, restent sujettes à caution et les relations de parenté entre clades sont souvent non-soutenues.

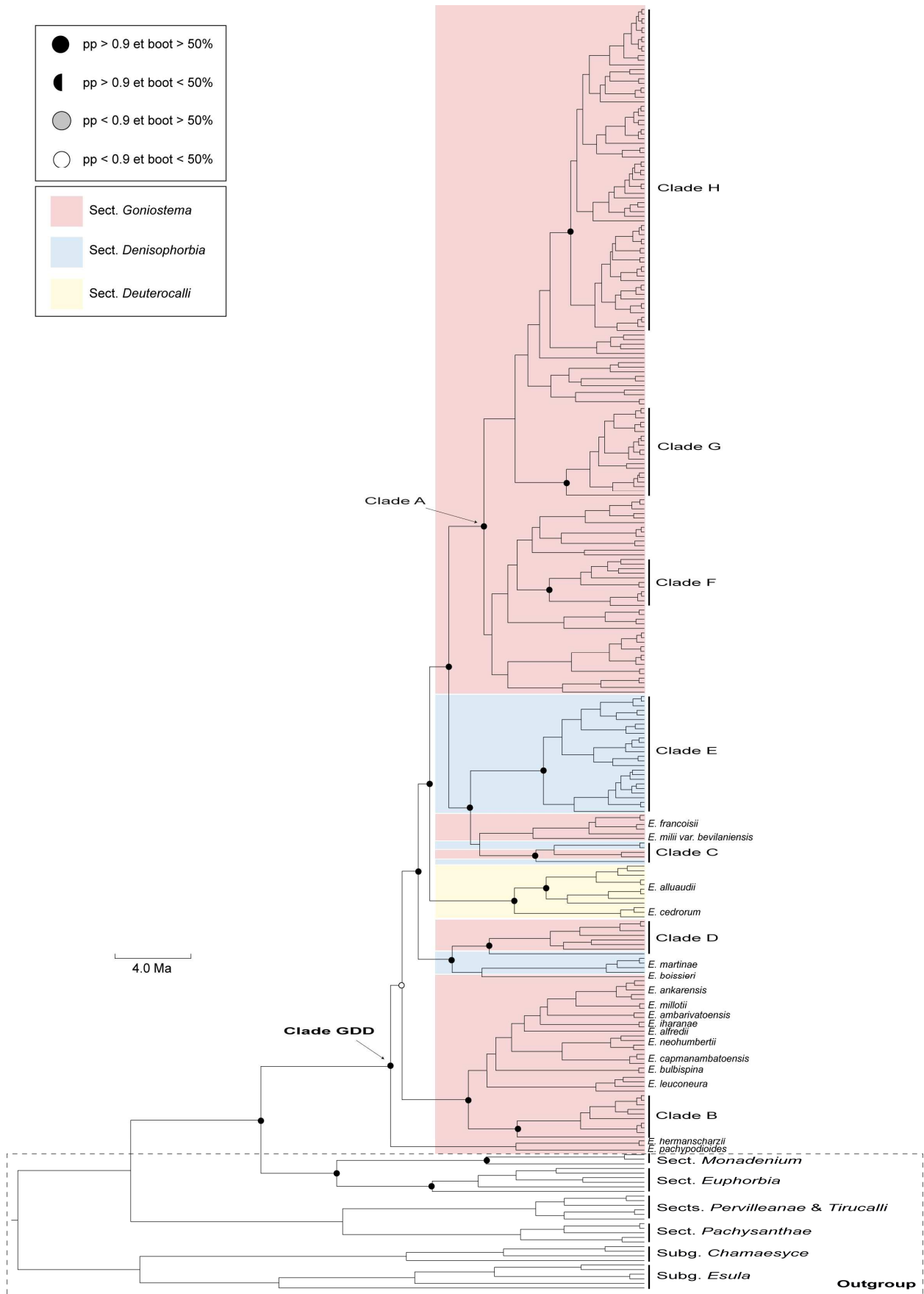


Figure V.4. Résumé de l'arbre consensus de crédibilité maximum (« maximum clade credibility tree ») des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne (BEAST) de la matrice combinée des marqueurs chloroplastiques. Seul les soutiens (*pp* et *bootstrap*) des nœuds basaux des clades décrits dans le manuscrit sont renseignés.

3. Régions nucléaires : ITS et ETS

Le groupe GDD est monophylétique dans les analyses basées sur les marqueurs nucléaires ITS et ETS (Figure V.5.). Cette monophylie dispose d'un meilleur soutien qu'avec les régions chloroplastiques ($92\% < boot < 99\%$; $pp = 1$). Pour les deux régions nucléaires, le clade GDD est placé en groupe frère des espèces de la section *Monadenium* (sous-genre *Euphorbia*) ($58\% < boot < 76\%$; $0,76 < pp < 0,94$). Ainsi, contrairement aux phylogénies chloroplastiques (pour lesquelles les sections *Monadenium* et *Euphorbia* sont groupes frères), ce sont la section *Monadenium* et le clade GDD qui sont apparentés, la section *Euphorbia* étant leur plus proche parente ($74\% < boot < 100\%$; $pp = 1$). Les topologies nucléaires fournissent une meilleure résolution que les régions chloroplastiques des liens de parenté profonds existant entre les sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema*. La section *Deuterocalli*, monophylétique ($70\% < boot < 100\%$; $pp = 1$), constitue pour les deux marqueurs nucléaires le clade le plus divergent (i.e. le clade basal) du clade GDD ($92\% < boot < 99\%$; $pp = 1$). Sa résolution interne est meilleure pour la région ETS, mais les topologies ne sont pas incongruentes. Pour les deux régions de l'ADN les échantillons d'*Euphorbia alluaudii* sont paraphylétiques : les populations poussant au nord de Fianarantsoa (nord des hauts plateaux et partie nord de Madagascar) ont pour plus proche parent *E. cedrorum* ($72\% < boot < 90\%$; $0,66 < pp < 1$), tandis que les populations au sud de Fianarantsoa forment le clade le plus divergent de la section *Deuterocalli*. Pour les régions nucléaires, la section *Denisophorbia* est monophylétique ($98\% < boot < 100\%$; $pp = 1$), mais son positionnement phylogénétique ainsi que la monophylie de la section *Goniostema* varient en fonction de la région. Pour la topologie ITS, qui présente la meilleure résolution à ce niveau de la phylogénie, la section *Goniostema* est monophylétique ($boot = 57\%$; $pp = 1$) et est groupe frère de la section *Denisophorbia* ($boot = 62\%$; $pp = 0,81$). Dans l'arbre ETS, le clade regroupant la section *Denisophorbia* et la section *Goniostema* présente une irrésolution basale qui place en polytomie la section *Denisophorbia* et plusieurs clades d'espèces appartenant à la section *Goniostema*. La phylogénie obtenue avec ETS ne permet donc pas de conclure sur la monophylie de la section *Goniostema*.

Nous allons détailler ci-dessous les grands clades des sections *Denisophorbia* et *Goniostema* décrits par les topologies nucléaires. La section *Denisophorbia* présente une histoire évolutive équivalente dans les arbres obtenus avec les régions ITS et ETS, mais sa résolution est supérieure avec ITS. L'unique point d'incongruence concerne la position phylogénétique des espèces non-malgaches de la section (plusieurs espèces potentiellement

nouvelles provenant des îles aux alentours de Madagascar et regroupées sous le nom d'*E. aff. pyrifolia*). Ces espèces sont toutes regroupées dans un même clade avec d'autres espèces malgaches dans la topologie ETS (*boot* = 91% ; *pp* = 1), alors qu'elles ne font pas partie d'un même clade dans l'arbre obtenu avec ITS. Le soutien statistique de la topologie obtenue avec ITS reste néanmoins faible.

Pour ITS, la topologie de la section *Goniostema* est constituée de deux clades qui divergent en premier de façon statistiquement soutenue, ainsi que d'un grand clade qui contient la majorité des espèces (Figure V.5.). On peut ainsi décrire les trois clades qui correspondent à la section *Goniostema* :

Un **clade I** (*boot* = 78% ; *pp* = 1) qui comprend toutes les espèces du **clade B** (tel qu'obtenu avec les analyses chloroplastiques séparées), ainsi que d'autres espèces de la section *Goniostema* placées dans les **grades A** et **B** dont les positionnements phylogénétiques étaient irrésolus avec les marqueurs chloroplastiques (i.e. *Euphorbia capmanambatoensis*, *E. iharanae*, *E. bulbispina* et *E. ambarivatoensis*).

Un **clade II** (*boot* = 82% ; *pp* = 1) formé de 5 espèces des **grades A** et **B**, (i.e. *E. pachypodioides*, *E. hermanschwarzii*, *E. alfredii*, *E. millotii* et *E. ankarensis*)

Un **clade III** (*boot* = 62% ; *pp* = 1), groupe frère du **clade II** (*boot* = 52% ; *pp* = 0,92), qui regroupe le reste de la section *Goniostema*. Le **clade III** est structuré en trois sous-clades dont les apparentements ne sont pas résolus. Deux de ces sous-clades sont de petite taille et correspondent à des regroupements d'espèces de *Goniostema* appartenant aux **grades A** et **B**. Un des deux sous-clades rassemble les individus échantillonnés pour l'espèce *E. leuconeura* (*boot* = 100% ; *pp* = 1). On retrouve au sein du deuxième sous-clade *E. boissieri*, *E. primulifolia* var. *primulifolia* ainsi que les représentants du **clade D** (tel que décrit par les régions chloroplastiques) à l'exception d'*E. bongolavensis* (section *Denisophorbia*) (*pp* = 0.73). Le troisième sous-clade enfin regroupe la grande majorité des membres de la section *Goniostema* (*boot* = 98% ; *pp* = 1). Ce dernier sous-clade est en tout point analogue au **clade A** (tel que décrit par les régions chloroplastiques), à la différence près qu'il englobe les 6 échantillons du sud de l'île de Madagascar placés au sein des **grades A** et **B** avec les marqueurs chloroplastiques (i.e. cinq représentants d'*E. francoisii* et un représentant d'*E. milii* var. *bevilanensis*).

La topologie du **clade A** est résolue, et présente à sa base deux grands clades statistiquement soutenus, le **clade IV** et le **clade V**. Le **clade IV** (*boot* = 89% ; *pp* = 1) contient toutes les espèces de la section *Goniostema* naines et à caudex du sud de Madagascar (e.g. *E. decaryi*, *E. cylindrifolia*), ainsi que les espèces et variétés apparentées à *E. milii* (e.g.

E. banae, *E. tardieuana*). Le **clade V** (*boot* = 83% ; *pp* = 1) est caractérisé par des espèces à la morphologie et à l'écologie variées. Les relations de parenté au sein de ces deux clades sont généralement faiblement soutenues et nous ne les discuterons pas ici. Néanmoins, il est à noter qu'aucun des clades décrits par les marqueurs chloroplastiques au sein du grand **clade A** (**clades F, G et H**) ne se retrouve à l'identique au sein des clades **IV** et **V**.

La topologie obtenue avec la région ETS (Figure V.5.) est en général analogue à celle fournie par le marqueur ITS. Comme précisé précédemment pour ITS, les relations de parenté entre les espèces des sections *Denisophorbia* et *Goniostema* ne sont néanmoins pas résolues et la section *Deuterocalli* est apparentée à un clade qui regroupe en polytomie la section *Denisophorbia*, les **clades I** (*pp* = 0,92) et **II** (*pp* = 0,54), et les trois clades du **clade III**. Les taxa *Euphorbia boissieri* et *E. primulifolia* var. *primulifolia* qui étaient apparentés aux espèces du **clade D** dans les arbres ITS sont ici placées comme les plus proches parentes des **clades IV** et **V** (respectivement *pp* = 0,77 et *pp* = 0,91). Les **clades IV** (*pp* = 0,93) et **V** (*boot* = 84% ; *pp* = 0,93) forment le même groupe monophylétique qu'avec le marqueur ITS (**clade A** ; *boot* = 55% ; *pp* = 0,93). La composition de ces clades est identique avec le marqueur ETS à l'exception de deux échantillons attribués à *E. primulifolia* originaire de l'Isalo (*E. aff. primulifolia* — Isalo), qui sont apparentés aux espèces du **clade IV**, en contradiction avec la topologie obtenue avec la région ITS qui les apparente au **clade V**.

Nous noterons une seule incongruence significative entre la topologie de la région ETS et toutes les autres topologies (ITS et chloroplastiques). Il s'agit du positionnement d'un échantillon d'*Euphorbia tardieuana*. Le topologie ETS est la seule à suggérer un proche apparentement entre celui-ci et les taxa du **clade I** (i.e. à des espèces appartenant aux **grades A et B** pour les marqueurs chloroplastiques). Ce résultat est surprenant étant donné que dans toutes les autres analyses, lorsque les topologies sont résolues, cet échantillon d'*E. tardieuana* est situé au coeur du **clade A**. Ainsi, tous les marqueurs chloroplastiques le placent de façon congruente à l'intérieur du **clade G** qui regroupe notamment tous les échantillons représentatifs d'*E. tardieuana*. ITS rapproche cet UTO des espèces du **clade V**, relation phylogénétique surprenante étant donné que les autres échantillons de l'espèce font partis du **clade IV**. Au vu de ces résultats il semble que les amplicons séquencés pour ETS et ITS ne correspondent pas au même individu que celui dont sont issues les séquences chloroplastiques. Ceci pourrait être expliqué par des erreurs de manipulation lors des réactions d'amplifications ou de séquençage (contaminations, intervertissements des extraits ou des amplicons d'ADN). Nous avons donc décidé d'exclure cet individu des analyses concaténées

mettant en jeu les régions nucléaires puis tous les marqueurs, ce qui réduit pour ces analyses le nombre d'échantillons analysés pour la matrice nucléaire et la matrice totale à 279.

Au final, à l'exception de quelques incongruences, les marqueurs ITS et ETS suggèrent la même histoire évolutive, avec la monophylie des trois sections (irrésolution en ETS pour la section *Goniostema*). Il s'agit d'un point d'incongruence évident entre les topologies chloroplastiques et nucléaires. En outre, si le **clade D** et surtout le **clade A** sont retrouvés quasiment à l'identique dans les analyses de données nucléaires, la résolution des analyses chloroplastiques (illustrée par les **clades B, C, E, F, G et H** mais aussi par les relations de parenté entre ces clades pour l'analyse chloroplastique concaténée) est significativement différente de l'histoire évolutive indiquée par les marqueurs nucléaires.

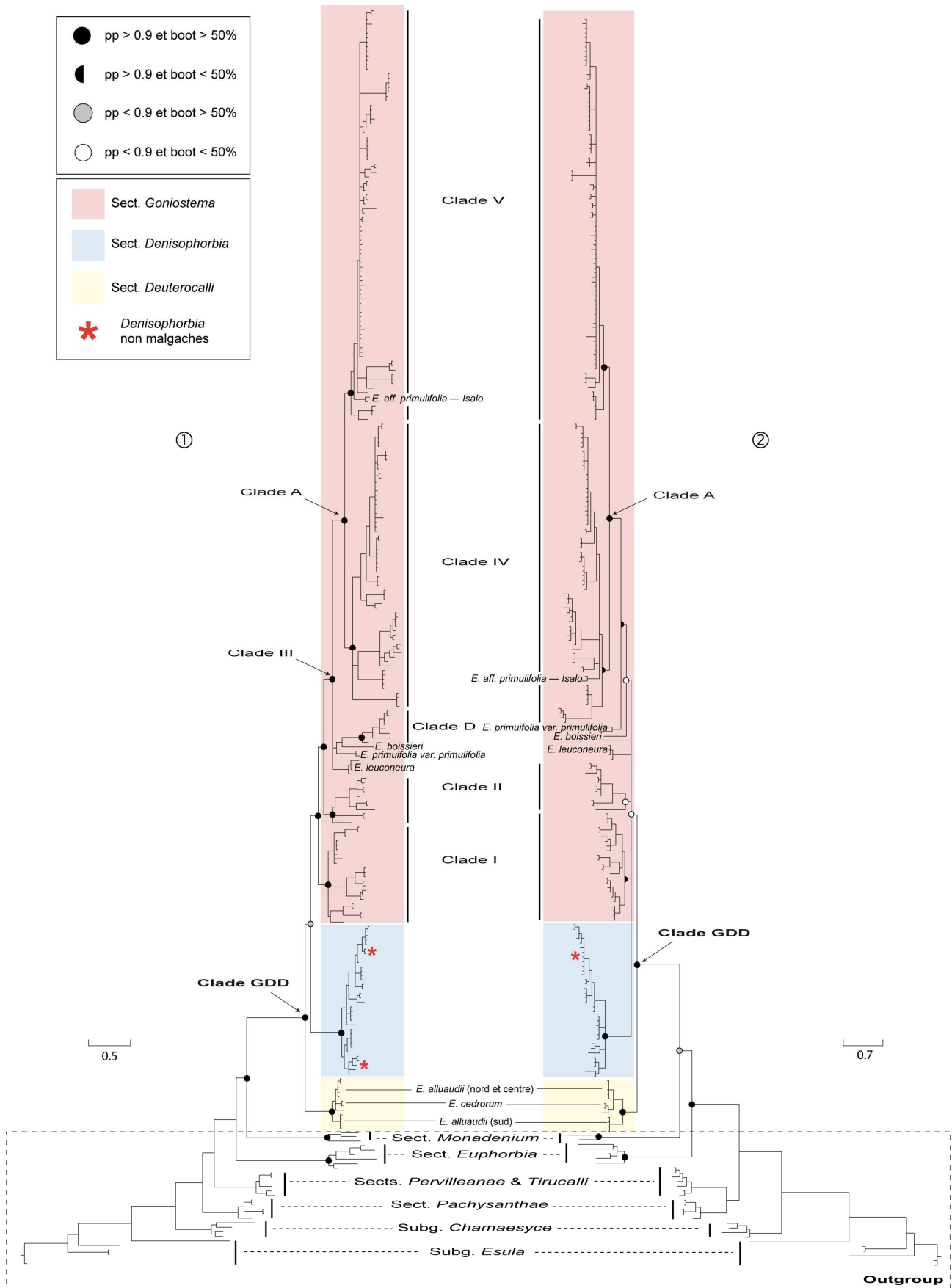


Figure V.5. Résumé des arbres de consensus majoritaire (« 50%-majority rule ») des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne (MrBayes) : ① du marqueur ITS ; ② du marqueur ETS. Seuls les soutiens (*pp* et *bootstrap*) des nœuds basaux des clades décrits dans le manuscrit sont renseignés.

4. Analyse combinée des régions nucléaires

La topologie consensus issue de l'analyse des régions ITS et ETS concaténées (Figure V.6.) ne varie pas grandement des phylogénies obtenues avec chaque marqueur pris séparément. Le clade GDD et les trois sections qui le composent sont ainsi tous monophylétiques (clade GDD : boot = 100% ; $pp = 1$, section *Deuterocalli* : boot = 100% ; $pp = 1$, section *Denisophorbia* : boot = 100% ; $pp = 1$, section *Goniostema* : boot = 72% ; $pp = 1$). Le clade GDD est proposé comme le plus proche parent de la section *Monadenium* (boot = 100% ; $pp = 1$) mais contrairement à toutes les autres topologies (chloroplastiques et nucléaires), la section *Euphorbia* forme avec les sections *Pervilleanae* et *Tirucalli* un clade bien soutenu (boot = 93% ; $pp = 1$) qui est groupe frère du clade formé par la section *Monadenium* et le clade GDD.

Au sein du clade GDD, les liens de parenté entre les trois sections sont analogues à ceux obtenus avec la seule région ITS (Figure V.6.) : bien que le soutien statistique soit faible, la section *Goniostema* est groupe frère de la section *Denisophorbia* (boot = 65% ; $pp = 0,54$) ; ces deux sections sont à leur tour directement apparentées à la section *Deuterocalli*. Les topologies consensus des sections *Deuterocalli* et *Denisophorbia* sont équivalentes à celles obtenues avec ITS et ETS pris séparément et nous ne les détaillerons pas ici. Néanmoins, la résolution des liens de parenté au sein de la section *Denisophorbia* est supérieure à celle obtenue avec ITS (qui présentait la meilleure résolution). Comme pour la topologie ETS (Figure V.5.), les espèces non-malgaches forment, avec d'autres espèces malgaches, un même clade (boot = 84% ; $pp = 1$).

La topologie consensus de la section *Goniostema* est un « hybride » de celles obtenues séparément avec ITS et ETS (i.e. moins bien résolue qu'avec la région ITS mais mieux qu'avec la seule région ETS). Les liens de parenté basaux de la section *Goniostema* ne sont pas résolus et les **clades I, II et III** que l'on retrouve à l'identique (**clade I** : $pp = 0,5$, **clade II** : boot = 82% ; $pp = 1$, **clade III** : $pp = 0,5$) sont placés en polytomie. Au sein du **clade III** les liens de parenté basaux sont faiblement résolus et seuls les taxa des **clades IV et V** forment un grand groupe statistiquement soutenu (**clade A** ; boot = 100% ; $pp = 1$). Comme pour le marqueur ETS, ce grand clade est directement apparenté à *Euphorbia primulifolia* var. *primulifolia* (boot = 59% ; $pp = 0,88$) ; ce regroupement est lui-même clade frère d'*E. boissieri* ($pp = 0,52$). Les **clades IV et V** qui le composent dans l'arbre consensus sont identiques à ceux décrits dans la topologie ITS (**clade IV** : boot = 86% ; $pp = 1$, **clade V** : boot = 60% ; $pp = 0,96$), les 2 échantillons attribués aux populations d'*E. primulifolia*

originaires de l'Isalo étant apparentés au **clade V**. À l'exception de cette incongruence, les topologies internes de ces deux clades sont identiques à celles obtenues avec les deux marqueurs pris séparément et nous ne les détaillerons pas ici.

Pris de façon séparés ou concaténés, les marqueurs nucléaires suggèrent une histoire évolutive incongruente par rapport à celle obtenue avec les marqueurs chloroplastiques. Si l'on retrouve des clades bien soutenus (section *Deuterocalli*, **clade A**, **clade B**, **clade D**), les nœuds profonds du clade GDD qui décrivent les relations de parenté entre les sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema* ne sont pas congruents. Plus particulièrement, les incongruences résident dans le placement des espèces des **grades A et B** (espèces appartenant aux trois sections) par rapport à celles du **clade A** (qui appartiennent uniquement à la section *Goniostema*). L'analyse des marqueurs nucléaires suggère que les espèces de la section *Goniostema* appartenant aux **grades A et B** sont apparentées aux espèces du **clade A** (en d'autres termes, que la section *Goniostema* monophylétique). La monophylie de la section *Goniostema* et surtout de la section *Denisophorbia* est particulièrement bien soutenue par ITS. Pour les topologies chloroplastiques, si les nœuds profonds ne sont le plus souvent pas statistiquement soutenus, l'analyse de toutes les régions concaténées montre une paraphylie soutenue des sections *Denisophorbia* et *Goniostema*. Dans l'espoir qu'en dépit de ces incongruences topologiques majeures, l'analyse combinée des régions chloroplastiques et nucléaires présente une meilleure résolution que lorsqu'elles sont analysées séparément, nous les avons combiné suivant la démarche dite de « total evidence » (Kluge 1989, Siddal & Kluge 1997). Cette méthode permet d'obtenir des hypothèses phylogénétiques disposant de la meilleure résolution possible, même dans le cas où des incongruences soutenues sont présentes (e.g. Eernisse & Kluge 1993, Mattern & McLennan 2004, Perret et al. 2003).

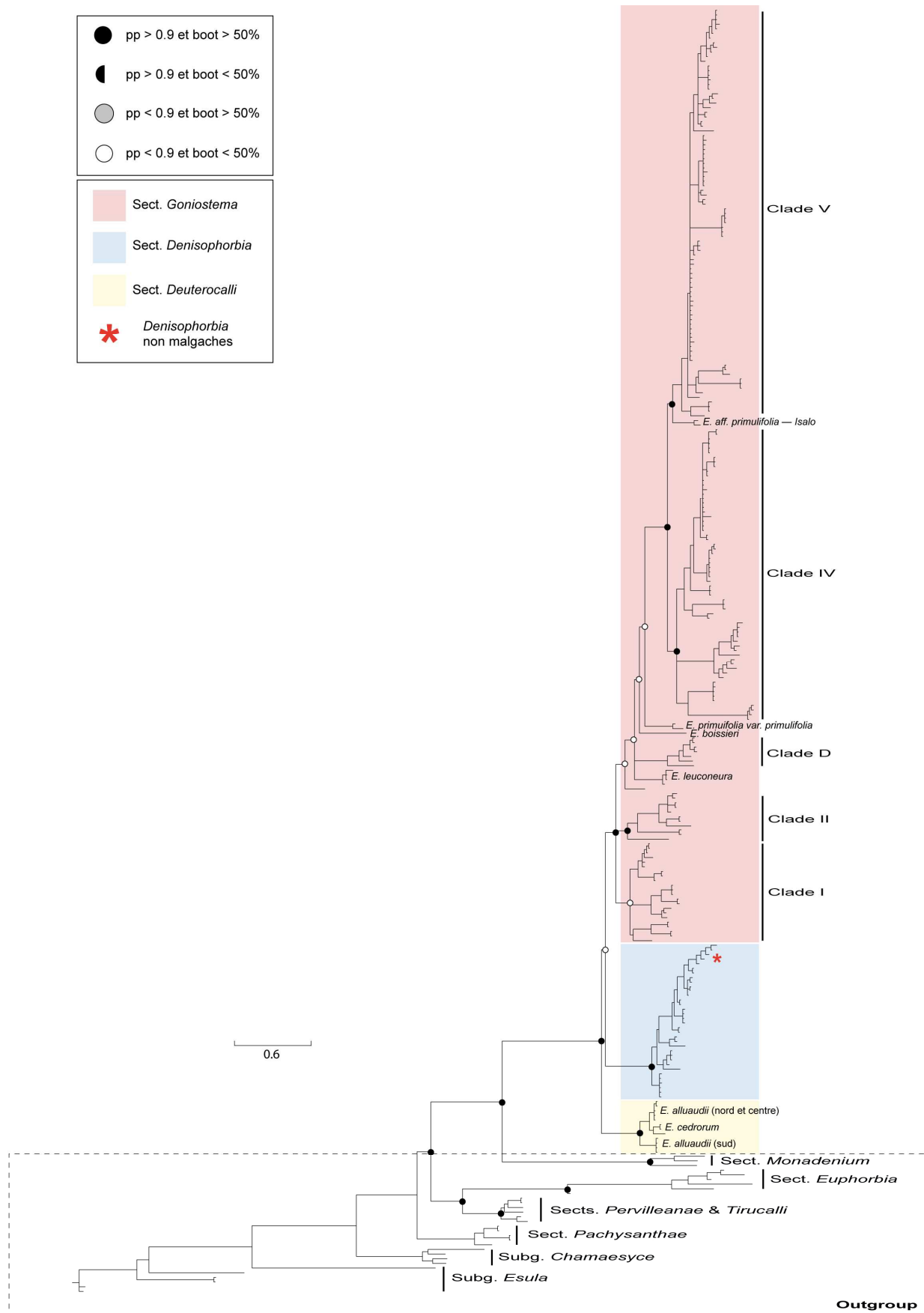


Figure V.6. Résumé de l'arbre de consensus majoritaire (« 50%-majority rule ») des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne (MrBayes) de la matrice combinée des marqueurs nucléaires. Seuls les soutiens (*pp* et *bootstrap*) des nœuds basaux des clades décrits dans le manuscrit sont renseignés.

5. Analyse combinée des huit régions nucléaires et chloroplastiques

Quand les régions nucléaires et chloroplastiques de l'ADN sont concaténées, la phylogénie consensus inférée (Figure V.7.a, b, c) est, de toutes les phylogénies obtenues, celle qui dispose de la meilleure résolution phylogénétique, surtout au niveau des nœuds internes récents. En fonction des nœuds internes on retrouve les relations de parenté observées soit avec les régions nucléaires, soit avec les régions chloroplastiques.

La monophylie du clade GDD est fortement soutenue ($boot = 100\%$; $pp = 1$) et, comme pour les régions chloroplastiques, il se place en tant que groupe frère du clade regroupant les membres des sections *Euphorbia* et *Monadenium* ($boot = 100\%$; $pp = 0,99$). Comme lors de l'analyse des régions nucléaires les trois sections du clade GDD sont monophylétiques (Figure V.7.a.), la monophylie de la section *Goniostoma* disposant néanmoins d'un faible soutien statistique (section *Deuterocalli* : $boot = 100\%$; $pp = 1$, section *Denisophorbia* : $boot = 100\%$; $pp = 1$, section *Goniostema* : $pp = 0,81$). Bien que l'architecture générale de la topologie soit identique aux phylogénies nucléaires (ITS et ETS), la relation de parenté entre les sections *Goniostema* et *Denisophorbia* est faiblement soutenue ($pp = 0,69$).

Nous allons détailler ci-dessous les relations de parenté dans chacune de ces sections. Pour faciliter les discussions clade par clade au sein de la section *Goniostema*, nous leur donnerons un nom basé sur la première espèce décrite qui lui est assignée. Pour chacun de ces clades la topologie interne sera décrite du bas de l'arbre vers le haut. Les adjectifs qui ont traités au positionnement graphique des clades les uns par rapport aux autres (viz. « premier », « second », etc.) n'ont donc pas de signification chronologique mais se réfèrent simplement à l'architecture des relations phylogénétiques.

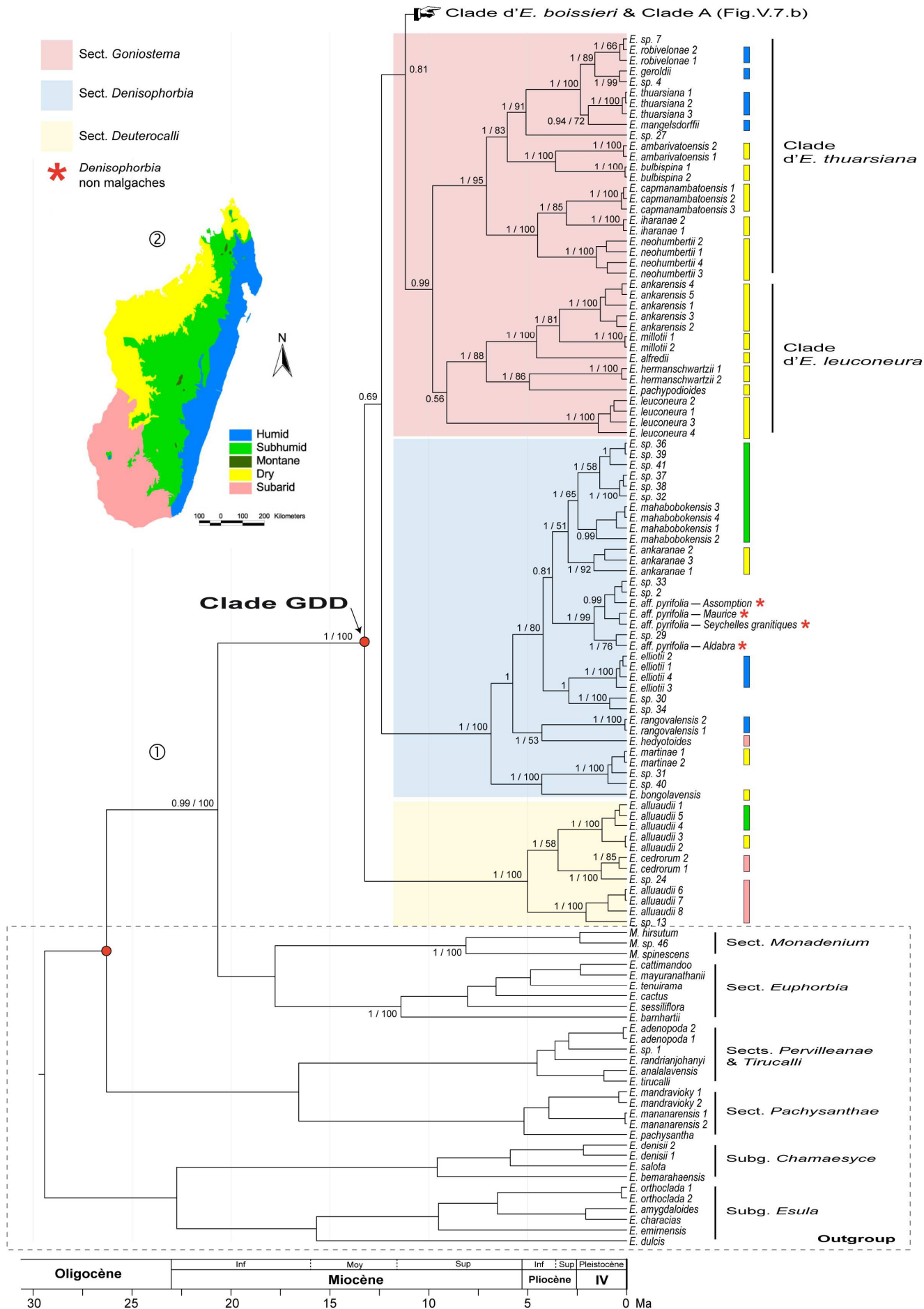
La section *Deuterocalli* (Figure V.7.a.) présente une topologie dans l'arbre combiné similaire à celle obtenue avec les régions nucléaires (et particulièrement avec la région ITS). *Euphorbia alluaudii* est paraphylétique : certains des individus lui étant attribués sont plus proche parent d'*E. cedrorum* ($boot = 58\%$; $pp = 1$) que des autres représentants d'*E. alluaudii*.

La section *Denisophorbia* (Figure V.7.a.) est enracinée par un clade regroupant *Euphorbia martinae* et *E. bongolavensis* ($boot = 100\%$; $pp = 1$). Le deuxième clade à diverger ($pp = 1$) est formé par *E. rangovalensis* et *E. hedyotoides* ($boot = 53\%$; $pp = 1$) ; il est le plus proche parent du clade enraciné par *E. elliotii* ($boot = 80\%$; $pp = 1$). Le prochain clade à diverger ($pp = 0,81$) regroupe des taxa apparentées à *E. pyrifolia* qui sont originaires du nord de Madagascar et des îles proches (atoll d'Aldabra, île de l'Assomption, îles

intérieures des Seychelles et Maurice) (boot = 99% ; pp = 1). Vraisemblablement, les taxa non originaires de Madagascar ne forment pas un groupe monophylétique. Ces taxa sont apparentés à un clade qui regroupe au moins deux espèces (boot = 51% ; pp = 1). À l'intérieur de ce clade, la première groupe à diverger correspond à *E. ankaranae*, qui est placée en position sœur d'un clade regroupant *E. mahabobokensis* et des taxa non-déterminés (potentiellement nouveaux) provenant de la région des hauts plateaux malgaches (boot = 65% ; pp = 1).

La section *Goniostema* (Figure V.7.a.) est enracinée par un clade de grande taille (ca. 15 spp.) qui dispose d'un bon soutien statistique en analyse BEAST (pp = 0,99). Ce clade s'organise en deux parties : un sous-clade qui regroupe 5 espèces apparentées à *Euphorbia leuconeura* (**clade d'*E. leuconeura*** ; pp = 0,56) et un autre qui rassemble 9 espèces apparentées à *E. thuarsiana* (**clade d'*E. thuarsiana*** ; boot = 95% ; pp = 1). Le **clade d'*E. leuconeura*** est enraciné par l'espèce susdite même si l'appartenance d'*E. leuconeura* à ce clade n'est pas fortement soutenue (pp = 0,56). *Euphorbia pachypodioides* et *E. hermanschwartzii* sont rassemblées au sein d'un clade (boot = 86% ; pp = 1) qui diverge en seconde position (boot = 88% ; pp = 1). Elles constituent le groupe frère d'un clade de 3 espèces enraciné par *E. alfredii* (boot = 100% ; pp = 1). *Euphorbia alfredii* est elle-même apparenté à un clade qui regroupe *E. millotii* et *E. ankarensis* (boot = 81% ; pp = 1). Au sein du **clade d'*E. thuarsiana***, les 3 espèces *E. neohumbertii*, *E. iharanae* et *E. capmanambatoensis* divergent en premier au sein d'un clade (boot = 100% ; pp = 1) qui rapproche *E. capmanambatoensis* et *E. iharanae* (boot = 85% ; pp = 1). Le deuxième clade à diverger (boot = 83% ; pp = 1) rassemble *E. bulbispina* et *E. ambarivatoensis* (boot = 100% ; pp = 1). Il est groupe frère d'un clade qui rassemble de façon statistiquement soutenue 4 espèces (boot = 100% ; pp = 1). Au sein de ce clade *E. thuarsiana* et *E. mangelsdorffii* d'une part et *E. geroldii* et *E. robivelonae* d'autre part sont apparentées (respectivement boot = 72% ; pp = 0,94 et boot = 89% ; pp = 1).

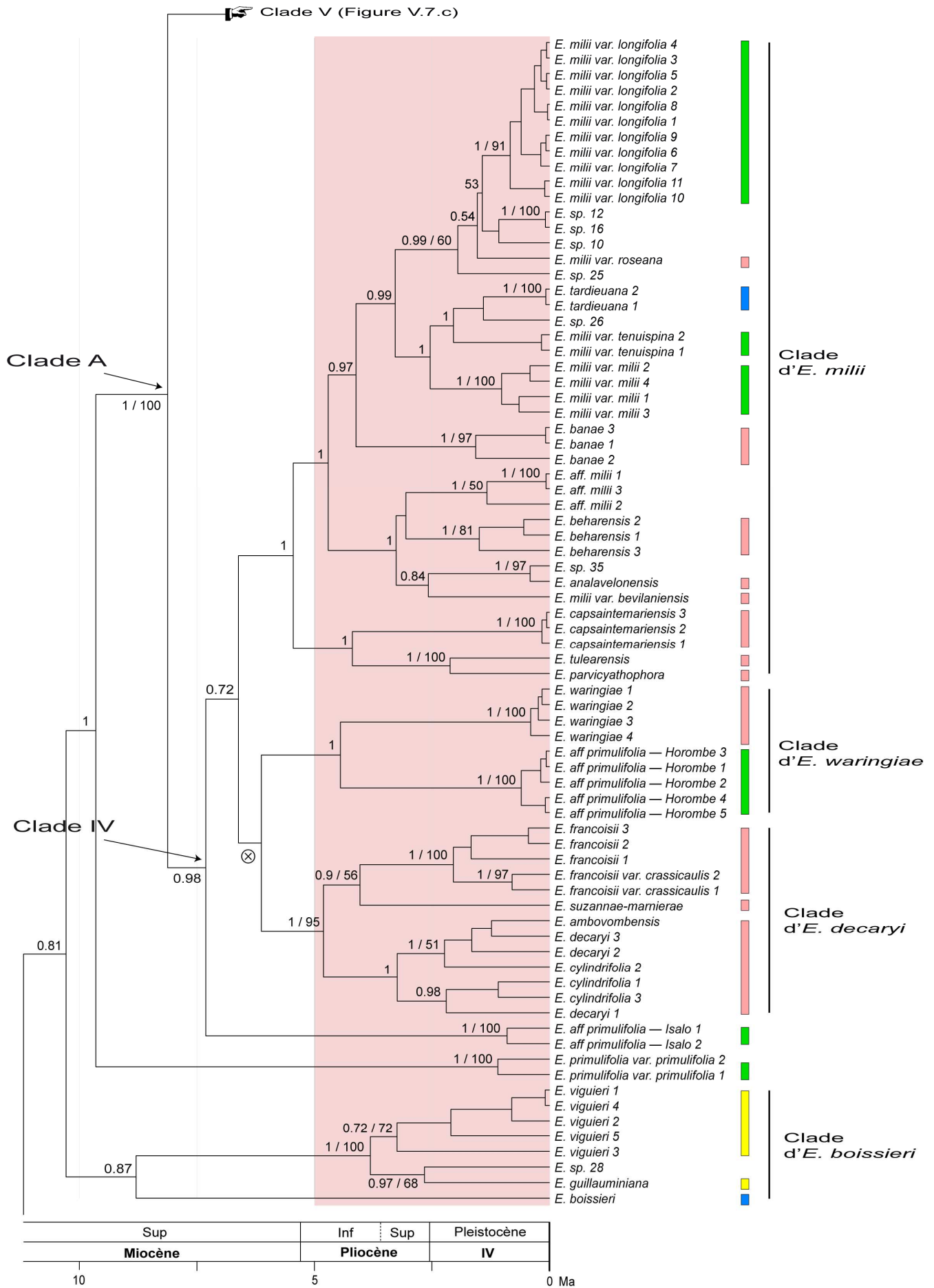
Figure V.7.a. ① Partie basale de l'arbre de consensus de crédibilité maximum (« maximum clade credibility tree ») des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne (BEAST) de la matrice combinée des huit marqueurs. L'échelle associée à la topologie est en million d'années (Ma). Les soutiens (pp / boot) des nœuds situés *a priori* dans le domaine intra-spécifique ne sont pas fournis. Les deux cercles rouges correspondent aux deux nœuds contraints par calibration secondaire. La zone bioclimatique occupée par chaque espèce est figurée sous la forme d'un rectangle coloré selon la carte des 5 grandes zones bioclimatiques de Madagascar : ② Carte des 5 grandes zones bioclimatiques de Madagascar selon Cornet (1974). →



Le second clade à diverger au sein de la section *Goniostema*, le **clade d'*Euphorbia boissieri*** (Figure V.7.b.), est un groupe de petite taille qui est rapproché de toutes les autres membres de la section *Goniostema* mais de façon peu soutenue ($pp = 0,81$). Il est composé d'*E. boissieri*, d'*E. guillauminiana* et d'*E. viguieri*, la première de ces espèces étant la plus divergente ($pp = 0,87$). Ces espèces sont en position sœur du clade qui regroupe la majorité des taxa de la section *Goniostema*. Ce grand clade est enraciné de façon soutenue ($pp = 1$) par *E. primulifolia* var. *primulifolia* originaire de la région nord des hauts plateaux malgaches (environs d'Antananarivo). Notons qu'*E. primulifolia* var. *primulifolia*, et les espèces du **clade d'*E. leuconeura***, du **clade d'*E. thuarsiana*** et du **clade d'*E. boissieri*** sont les mêmes que celles qui composent les **clades I, II** et les clades basaux de **clade III** dans les arbres obtenus avec les marqueurs nucléaires (i.e. toutes les espèces qui ne sont pas incorporées dans les **clades IV** et **V**) et donc peu ou prou les mêmes taxa que les ceux de la section *Goniostema* qui appartiennent aux **grades A** et **B** pour les marqueurs chloroplastiques.

Le grand clade apparenté à *Euphorbia primulifolia* var. *primulifolia* (Figure V.7.b.) correspond au **clade A** tel que décrit par les régions nucléaires et en partie par les marqueurs chloroplastiques (boot = 100% ; $pp = 1$). Ce clade est découpé, de la même manière que dans les arbres nucléaires, en deux grands groupes, les **clades IV** et **V**. La composition spécifique de chacun de ces clades est analogue à celle obtenue avec l'analyse de la seule région ETS (les 2 échantillons attribuées aux populations d'*E. primulifolia* originaires de l'Isalo sont apparentées au **clade IV**).

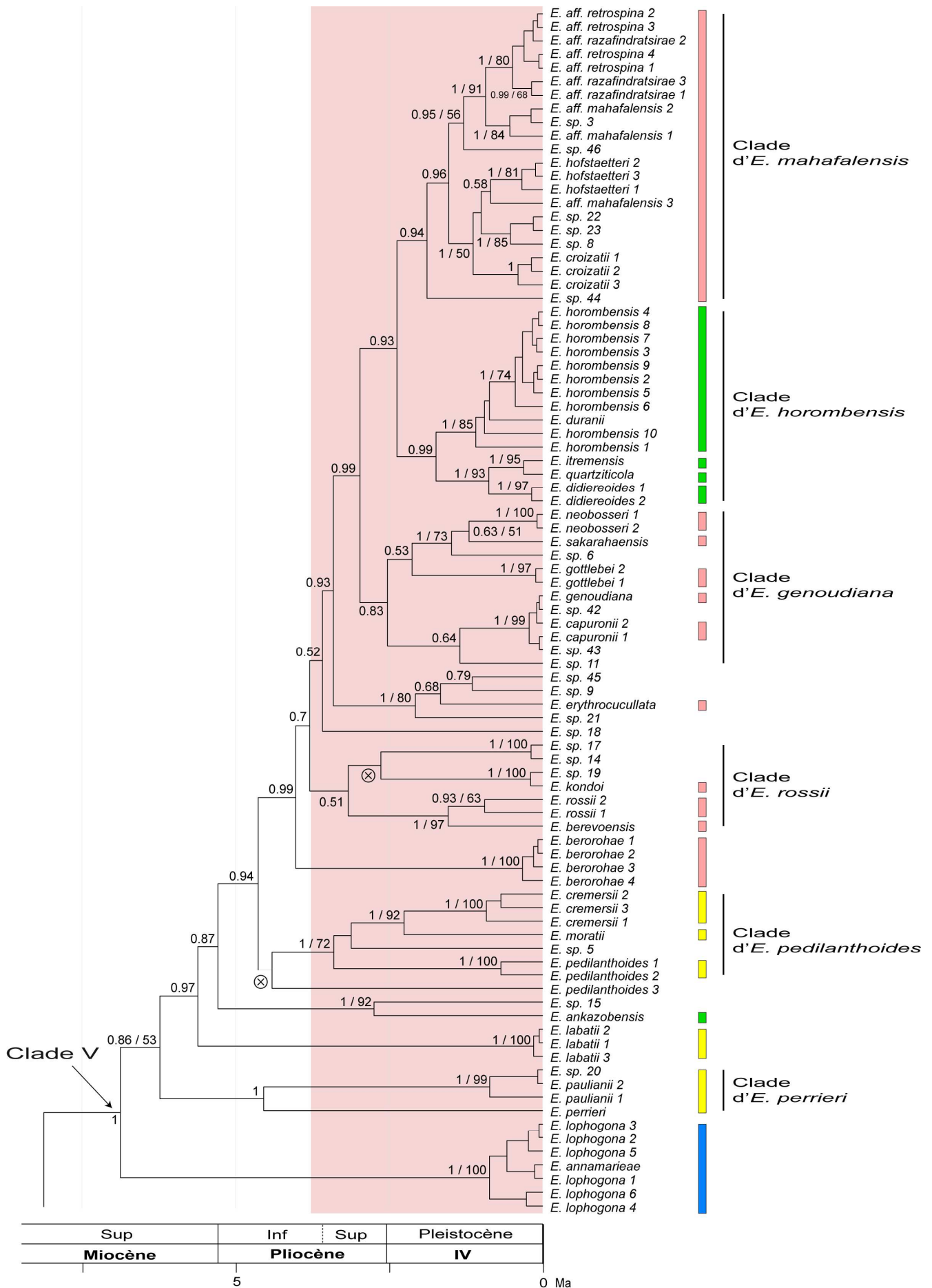
Le **clade IV** ($pp = 0,98$) est enraciné par *Euphorbia* aff. *primulifolia* — Isalo (Figure V.7.b.). Les relations de parenté à la base du **clade IV** restent faiblement soutenues et pour certaines non résolues. Le clade frère d'*E. aff. primulifolia* — Isalo est faiblement soutenu ($pp = 0,72$) et les liens de parenté basaux ne sont pas résolus (boot < 50% ; $pp < 0,5$). Il est lui-même composé de trois clades statistiquement soutenus. Le premier de ces trois clades (boot = 95% ; $pp = 1$), le **clade d'*E. decaryi***, regroupe 5 espèces (*E. decaryi*, *E. cylindrifolia*, *E. ambovombensis*, *E. suzannae-marnierae*, *E. francoisii* et *E. waringiae*) et 1 taxon infra-spécifique (*E. francoisii* var. *crassicaulis*). *Euphorbia francoisii* et *E. suzannae-marnierae* sont en position soeurs (boot = 56% ; $pp = 0,9$) et les échantillons attribués à *E. decaryi*, *E. cylindrifolia* et *E. ambovombensis* forment un clade soutenu ($pp = 1$). Telles que s'organisent les liens de parenté au sein de ce dernier clade, *E. decaryi* et *E. cylindrifolia* apparaissent comme des concepts paraphylétiques. Le deuxième clade, le **clade d'*E. waringiae***, regroupe deux *E. waringiae* et *E. aff. primulifolia* — Horombe, ($pp = 1$).



← **Figure V.7.b.** Suite de l'arbre de consensus de crédibilité maximum (« maximum clade credibility tree ») des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne (BEAST) de la matrice combinée des huit marqueurs. Les soutiens (*pp* / boot) des nœuds situés *a priori* dans le domaine intra-spécifique ne sont pas fournis. ⊗ : *pp* < 0.5 et boot < 50%. L'échelle associée à la topologie est en million d'années (Ma). La zone bioclimatique occupée par chaque espèce est figurée sous la forme d'un rectangle coloré selon la carte des 5 grandes zones bioclimatiques de Madagascar (voir Figure V.7.a.).

Avec trois populations toutes apparentées à *E. primulifolia* mais qui diffèrent de part leurs positionnements phylogénétiques et leurs provenances géographiques, il semble fort probable que le concept d'*E. primulifolia* utilisé ici soit paraphylétique. Le **clade d'*E. waringiae*** (Figure V.7.b.) est ici proposé comme le plus proche parent du **clade d'*E. decaryi*** mais, étant donné qu'on ne peut pas considérer que ce lien de parenté soit soutenu (*pp* < 0,5), nous ne le discuterons pas. Le troisième clade, le **clade d'*E. milii*** (Figure V.7.b.), regroupe un plus grand nombre d'espèces, avec des représentants d'environ. 13 taxa (*pp* = 1). Il est enraciné par un clade qui regroupe *E. capsaintemariensis*, *E. tulearensis* et *E. parvicyathophora* (*pp* = 1). Le deuxième clade à diverger (*pp* = 1) rassemble *E. analavelonensis*, *E. beharensis* et deux taxa apparentés à *E. milii* dont un est identifié comme la variété *E. milii* var. *bevilanensis*. Le groupe frère de ce clade est enraciné par l'espèce *E. banae* (*pp* = 0,97), qui est directement apparentée à un clade qui regroupe 4 variétés placées dans *E. milii* et l'espèce *E. tardieuana* (*pp* = 0,99). À l'intérieur de ce clade, *E. tardieuana*, *E. milii* var. *tenuispina* et *E. milii* var. *milii* sont apparentés (*pp* = 1). Ensemble ils constituent le groupe frère du clade formé par *E. milii* var. *roseana* et *E. milii* var. *longifolia* (boot = 60% ; *pp* = 0,99). Étant donné que seules quelques unes des variétés d'*E. milii* forment un groupe monophylétique (*E. milii* var. *roseana* et *E. milii* var. *longifolia*), le concept de cette espèce semble donc clairement paraphylétique et plusieurs des taxa décrits ici comme des variétés d'*E. milii* méritent vraisemblablement d'être reconnus comme des espèces à part entière.

Figure V.7.c. Suite de l'arbre de consensus de crédibilité maximum (« maximum clade credibility tree ») des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne (BEAST) de la matrice combinée des huit marqueurs. Les soutiens (*pp* / boot) des nœuds situés *a priori* dans le domaine intra-spécifique ne sont pas fournis. ⊗ : *pp* < 0.5 et boot < 50%. L'échelle associée à la topologie est en million d'années (Ma). La zone bioclimatique occupée par chaque espèce est figurée sous la forme d'un rectangle coloré selon la carte des 5 grandes zones bioclimatiques de Madagascar (voir Figure V.7.a.). →



Le **clade V** ($pp = 1$) est enraciné par *Euphorbia lophogona* et *E. annamariae* (Figure V.7.c.). Le deuxième clade à diverger (boot = 53% ; $pp = 0,86$), le **clade d’E. perrieri**, regroupe *E. perrieri* et *E. paulianii* ($pp = 1$), qui sont apparentées à un clade au sein duquel *E. labatii* diverge en premier ($pp = 0,97$) et l’espèce *E. ankazobensis* en second ($pp = 0,87$). *Euphorbia pedilanthoides*, *E. moratii* et *E. cremersii* forment le **clade d’E. pedilanthoides** ($pp = 72\%$; $pp = 1$) qui diverge en troisième position ($pp = 0,94$). Suit *E. berorohae* ($pp = 0,99$), puis le **clade d’E. rossii** ($pp = 0,51$), qui regroupe *E. rossii*, *E. kondoi* et *E. berevoensis*. Le **clade d’E. rossii** est apparenté à un grand clade enraciné par *erythroculata* ($pp = 0,93$) et qui comprend successivement le **clade d’E. genoudiana** ($pp = 0,83$; *E. capuronii*, *E. genoudiana*, *E. gottlebei*, *E. sakarahaensis*, *E. neobosseri*), le **clade d’E. horombensis** ($pp = 0,99$; *E. didiereoides*, *E. quartzitcola*, *E. itremensis*, *E. horombensis*, *E. duranii*) et le **clade d’E. mahafalensis** ($pp = 0,94$; *E. croizatii*, *E. hofstaetteri*, *E. aff. mahafalensis*, *E. aff. razafindratsirae* et *E. aff. retrospina*). Ce grand clade est bien soutenu ($pp = 0,99$) et les **clades d’E. horombensis** et **d’E. mahafalensis** sont des groupes frères ($pp = 0,93$). Le **clade V**, et tout particulièrement le **clade d’E. mahafalensis**, comprend de nombreux UTOs non identifiés ou dont l’identification est douteuse. Ceci résulte de l’ambiguïté du traitement taxonomique des espèces buissonnantes du sud de Madagascar et complexifie considérablement les discussions concernant la monophylie des concepts d’espèces utilisés.

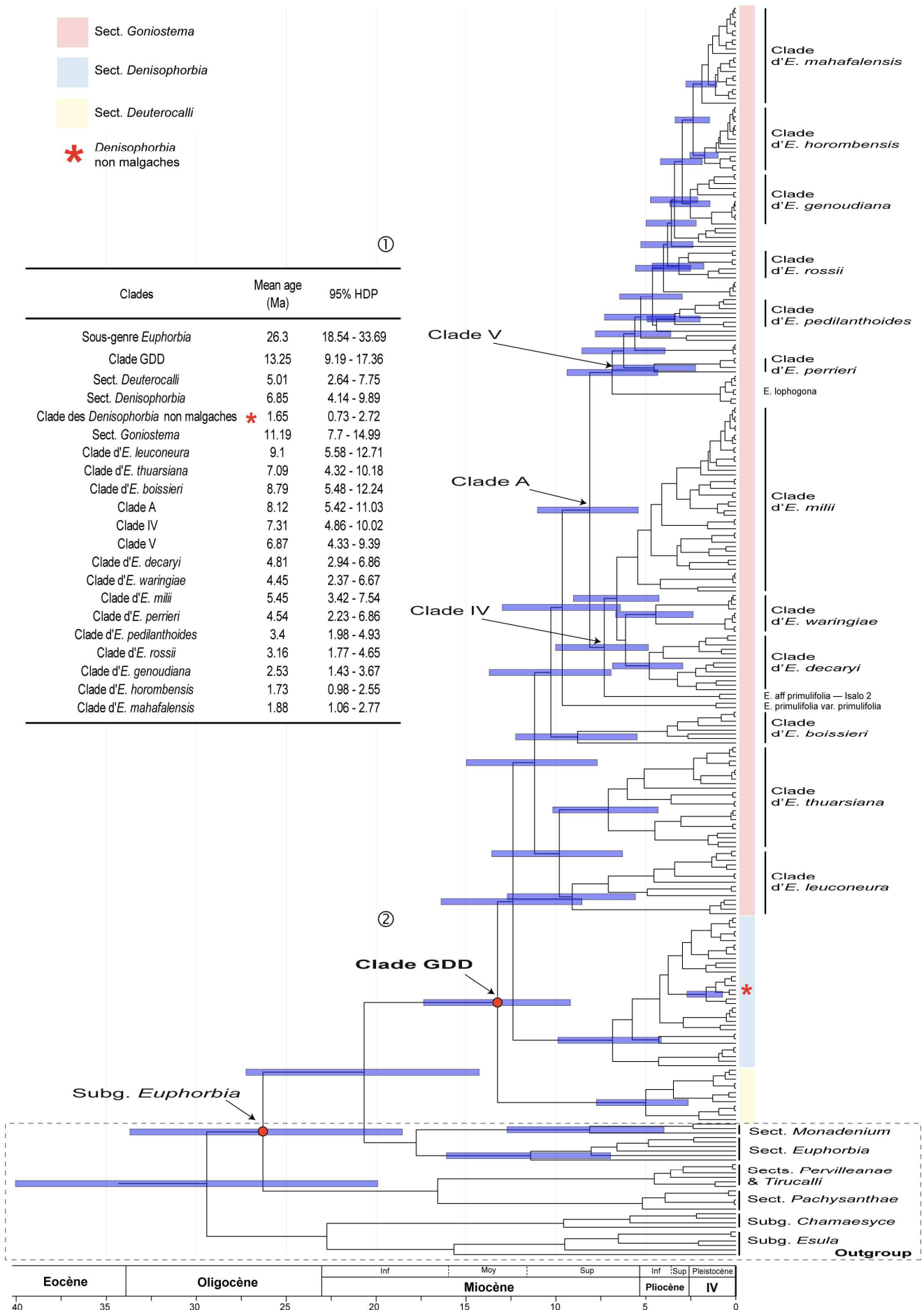
La phylogénie obtenue lorsque toutes les régions nucléotidiques sont concaténées offre ainsi la meilleure résolution obtenue pour le clade GDD. Les relations de parenté basales et entre les clades de petite et moyenne taille suivent largement ce qui a été observé dans les arbres obtenus des données nucléaires, notamment en ce qui concerne monophylie des sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia*, et *Goniostema*. Néanmoins on retrouve comme dans le cas des topologies nucléaires quelques groupes équivalents à ceux observés avec les topologies chloroplastiques tels le **clade d’E. thuarsiana** (qui correspond au **clade B** dans les arbres chloroplastiques) ou le **clade d’E. boissieri** (qui correspond en partie au **clade D**, sans *E. rangovalensis* et en incluant *E. boissieri*). Étant donné que cette topologie présente la résolution maximale et un soutien statistique relativement important pour la majorité des nœuds internes, notre discussion des temps de divergence estimés pour chaque lignée se basera sur la phylogénie datée obtenue avec la matrice totale.

Figure V.8. ① Tableau présentant les âges estimés et les intervalles de confiance à 95% associés (95% HDP) pour chacun des grands clades du groupe GDD ainsi que pour le sous-genre *Euphorbia*. ② Arbre de consensus de crédibilité maximum (« maximum clade credibility tree ») des arbres obtenus lors de l’analyse bayésienne (BEAST) de la matrice combinée des huit marqueurs. L’échelle associée à la topologie est en million d’années (Ma). Les « 95% HDP » sont fournis pour chacun des nœuds basaux des grands clades ; ils sont représentés par des rectangles bleus. Les deux cercles rouges correspondent aux deux nœuds contraints par calibration secondaire. →

- Sect. *Goniostema*
- Sect. *Denisophorbia*
- Sect. *Deuterocalli*
- * *Denisophorbia* non malgaches

①

Clades	Mean age (Ma)	95% HDP
Sous-genre <i>Euphorbia</i>	26.3	18.54 - 33.69
Clade GDD	13.25	9.19 - 17.36
Sect. <i>Deuterocalli</i>	5.01	2.64 - 7.75
Sect. <i>Denisophorbia</i>	6.85	4.14 - 9.89
Clade des <i>Denisophorbia</i> non malgaches *	1.65	0.73 - 2.72
Sect. <i>Goniostema</i>	11.19	7.7 - 14.99
Clade d' <i>E. leuconeura</i>	9.1	5.58 - 12.71
Clade d' <i>E. thuarsiana</i>	7.09	4.32 - 10.18
Clade d' <i>E. boissieri</i>	8.79	5.48 - 12.24
Clade A	8.12	5.42 - 11.03
Clade IV	7.31	4.86 - 10.02
Clade V	6.87	4.33 - 9.39
Clade d' <i>E. decaryi</i>	4.81	2.94 - 6.86
Clade d' <i>E. waringiae</i>	4.45	2.37 - 6.67
Clade d' <i>E. milii</i>	5.45	3.42 - 7.54
Clade d' <i>E. perrieri</i>	4.54	2.23 - 6.86
Clade d' <i>E. pedilanthoides</i>	3.4	1.98 - 4.93
Clade d' <i>E. rossii</i>	3.16	1.77 - 4.65
Clade d' <i>E. genoudiana</i>	2.53	1.43 - 3.67
Clade d' <i>E. horombensis</i>	1.73	0.98 - 2.55
Clade d' <i>E. mahafalensis</i>	1.88	1.06 - 2.77



②

Clade GDD

Subg. *Euphorbia*

- Sect. *Monadenium*
- Sect. *Euphorbia*
- Sects. *Pervilleanae & Tirucalli*
- Sect. *Pachysanthae*
- Subg. *Chamaesyce*
- Subg. *Esula*
- Outgroup**



6. Estimation des temps de divergence

L'analyse phylogénétique des 8 régions moléculaires concaténées effectuée avec BEAST a permis de dater les événements de divergence au sein de l'arbre phylogénétique. Les âges estimés pour chacun des nœuds internes majeurs du clade GDD (i.e. les âges des nœuds des différents grands clades) et pour le sous-genre *Euphorbia* sont donnés avec leurs intervalles de confiance à 95% dans le tableau de la Figure V.8. Pour les nœuds profonds et les nœuds à la base des grands clades, les intervalles de confiance à 95% sont figurés sur la topologie (Figure V.8.).

IV. Discussion

1. Incongruences topologiques

Les phylogénies du clade GDD obtenues avec les marqueurs chloroplastiques et nucléaires décrivent des incongruences nombreuses et structurelles entre les deux types de régions nucléotidiques. Ainsi nous retrouvons les résultats de Dorsey et al. (sous presse) qui montraient une incongruence soutenue entre les topologies chloroplastiques et nucléaires au niveau de la monophylie des sections *Goniostema* et *Denisophorbia*. L'ampleur de l'échantillonnage utilisé dans la présente étude (dont un échantillonnage taxonomique du clade GDD quasi-complet), la faible proportion des données manquantes et la confirmation des résultats obtenus séparément au sein d'autres laboratoires, permettent raisonnablement d'exclure une interprétation uniquement artefactuelle des incongruences (i.e. une explication des incongruences uniquement basée sur la discussion des différences d'échantillonnages). Malheureusement, il n'existe pas de techniques indubitables pour identifier les causes potentielles des incongruences topologiques et peu d'études ont été dédiées à l'exploration minutieuse de ce sujet (voir van der Niet & Linder 2008, Wiens & Hollingsworth 2000, Duvall & Ervin 2004).

Les incongruences majeures obtenues dans notre étude (plus ou moins statistiquement soutenues en fonction des marqueurs) concernent avant tout les relations de parenté basales du clade GDD ; certains clades sont retrouvés presque intégralement avec les ADN chloroplastiques et nucléaires (**clade A**, **clade B**, section *Deuterocalli*). En revanche, les positions phylogénétiques des taxons basaux de la section *Goniostema* (i.e. toutes les espèces de cette section qui n'appartiennent pas au **clade A**) par rapport aux espèces des sections *Denisophorbia* et *Deuterocalli* sont problématiques. Ces taxons basaux partagent la

particularité de n'occuper que la moitié nord de l'île de Madagascar (i.e. latitudes au nord de la capitale, Antananarivo), et de présenter des caractéristiques morphologiques et écologiques singulières²⁷ : ports arbustifs et arborescents, présence dans des zones de forêt tropicale humide (e.g. *Euphorbia thuarsiana*, *E. mangelsdorffii*) ; port « cactiforme » et présence sur des falaises karstiques (e.g. *E. capmanambatoensis*, *E. viguieri*). Si dans tous les cas, ces espèces occupent une position basale au sein du clade GDD et sont séparées de toutes les autres espèces de la section *Goniostema* (**clade A**), les marqueurs chloroplastiques, au contraire des régions nucléaires, peinent à inférer les relations phylogénétiques à ce niveau de la phylogénie (Figure V.1, 2, 3). Néanmoins, étant donné que lorsque toutes les régions chloroplastiques sont concaténées la topologie obtenue présente des liens de parenté basaux résolus, statistiquement soutenus et profondément incongruents avec ceux observés avec les inférences basées sur des marqueurs nucléaires (Figure V.4.), il est vraisemblable que les incongruences observées résultent en partie d'une non coalescence des régions nucléaires et chloroplastiques étudiés. En d'autres termes les marqueurs chloroplastiques et les marqueurs nucléaires n'auraient pas suivi la même histoire évolutive.

Comme cela a déjà été remarqué précédemment, il n'existe pas à l'heure actuelle de manière satisfaisante de gérer les problèmes d'incongruences topologiques, et la plupart des études choisissent soit d'exclure les taxa incongruents des analyses combinées (Alejandro et al. 2005), soit d'effectuer les analyses combinées en prenant quand-même en compte les taxa incongruents dans les analyses phylogénétiques (Wang et al. 2004). La construction d'arbres en réseaux (ou arbres réticulés) permet de faire figurer les différentes histoires évolutive hypothétiques de chaque taxon (par comparaison des séquences brutes ou des topologies obtenues) (voir Vriesendorp & Bakker 2005). Vu la taille de nos jeux de données, et étant donnée le grand nombre et l'importance des incongruences détectées entre les régions chloroplastiques et nucléaires, la construction d'un tel arbre réticulé aurait été particulièrement compliquée et l'exclusion des taxa incongruents aurait été impossible. En outre, les arbres réticulés sont des constructions synthétiques qui rendent difficiles ou empêchent les études évolutives ultérieures (estimations des temps de divergence, reconstruction des états de caractères ancestraux, etc.).

Dans l'espoir que la combinaison des données chloroplastiques et nucléaires permette de dépasser les incongruences et de fournir une topologie mieux résolue, nous avons décidé de concaténer toute l'information nucléotidique disponible afin de l'analyser ensemble. Les

²⁷ « Singulières » signifie ici que ces caractéristiques observées pour les espèces basales, sont aussi présentes chez le **clade A**, mais en proportion beaucoup plus faible.

résultats phylogénétiques issus de cette analyse (Figure V.7.a, b, c) disposent d'une meilleure résolution que toutes les autres topologies obtenues à ce jour et nous considérons donc cette phylogénie comme la topologie la plus représentative de l'histoire évolutive du clade GDD.

2. Monophylie des concepts infra-génériques

La topologie du clade GDD issue de l'analyse combinée de tous les marqueurs présente la même architecture générale que celle déjà obtenue par Haevermans et al. (2004) et Dorsey et al. (sous presse) avec la seule région ITS. Si les travaux de Zimmermann et al. (2010) retrouvent eux aussi la monophylie des trois sections, les sections *Deuterocalli* et *Deniosporbia* sont néanmoins placées par ces auteurs comme proche parentes. La monophylie de la section *Goniostema* et l'apparementement des sections *Deniosporbia* et *Goniostema* disposent dans nos arbres d'un soutien statistique fort seulement avec les régions nucléaires (Figures V.5, 6) ; l'ajout des marqueurs chloroplastiques tend à diminuer le soutien statistique (Figure V.7.a, b, c). Étant donné la convergence des études phylogénétiques citées ci-dessus (qui, rappelons-le, sont celles qui présentent le plus large échantillonnage taxonomique pour le clade GDD) et la relative homogénéité morphologique des trois sections²⁸, l'hypothèse selon laquelle les trois sections du clade GDD sont monophylétiques reste la plus vraisemblable.

La présente étude confirme en partie les conclusions d'Haevermans et al. (2004). Les espèces malgaches du sous-genre *Lacanthis* circonscrit par Gilbert (1987) forment en effet un ensemble monophylétique, qui correspond à la section *Goniostema* telle qu'elle est reconnue ici. Au sein de cette section nous retrouvons les clades informels décrits par Haevermans et al. (2004), en excluant évidemment les espèces que ces auteurs n'avaient pas échantillonnées. Néanmoins, nos résultats indiquent des relations phylogénétiques entre ces clades qui sont différentes de celles présentées par Haevermans et al. (2004). À titre d'exemple, on peut citer les espèces des clades d'*Euphorbia iharanae*, d'*E. thuarsiana* et d'*E. ankarensis* (sensu Haevermans et al. 2004, Figure V.9.). Ces clades sont toujours placés en position basale au sein de la phylogénie de la section *Goniostema* mais contrairement à la topologie obtenue par Haevermans et al. (2004), dans nos arbres, ils sont apparementés au sein d'un grand clade (qui regroupe le **clade d'*E. thuarsiana*** et le **clade d'*E. leuconoura***, Figure V.9.). Certaines espèces voient aussi leurs positions phylogénétiques varier. Au sein du **clade A**, *E.*

²⁸ Homogénéité relative à la morphologie des graines, des cyathophylles et des stipules pour la très diverse section *Goniostema*.

primulifolia [représentée chez Haevermans et al. (2004) par la seule population *E. aff. primulifolia* — Isalo] se retrouve au cœur du **clade V**, ce qui, comme nous l'avons montré ci-dessus, est sa position phylogénétique type avec le marqueur ITS mais est incongruent avec son positionnement phylogénétique obtenu avec le marqueur ETS seul ou avec tous les marqueurs concaténés (Figure V.5, 7.b.).

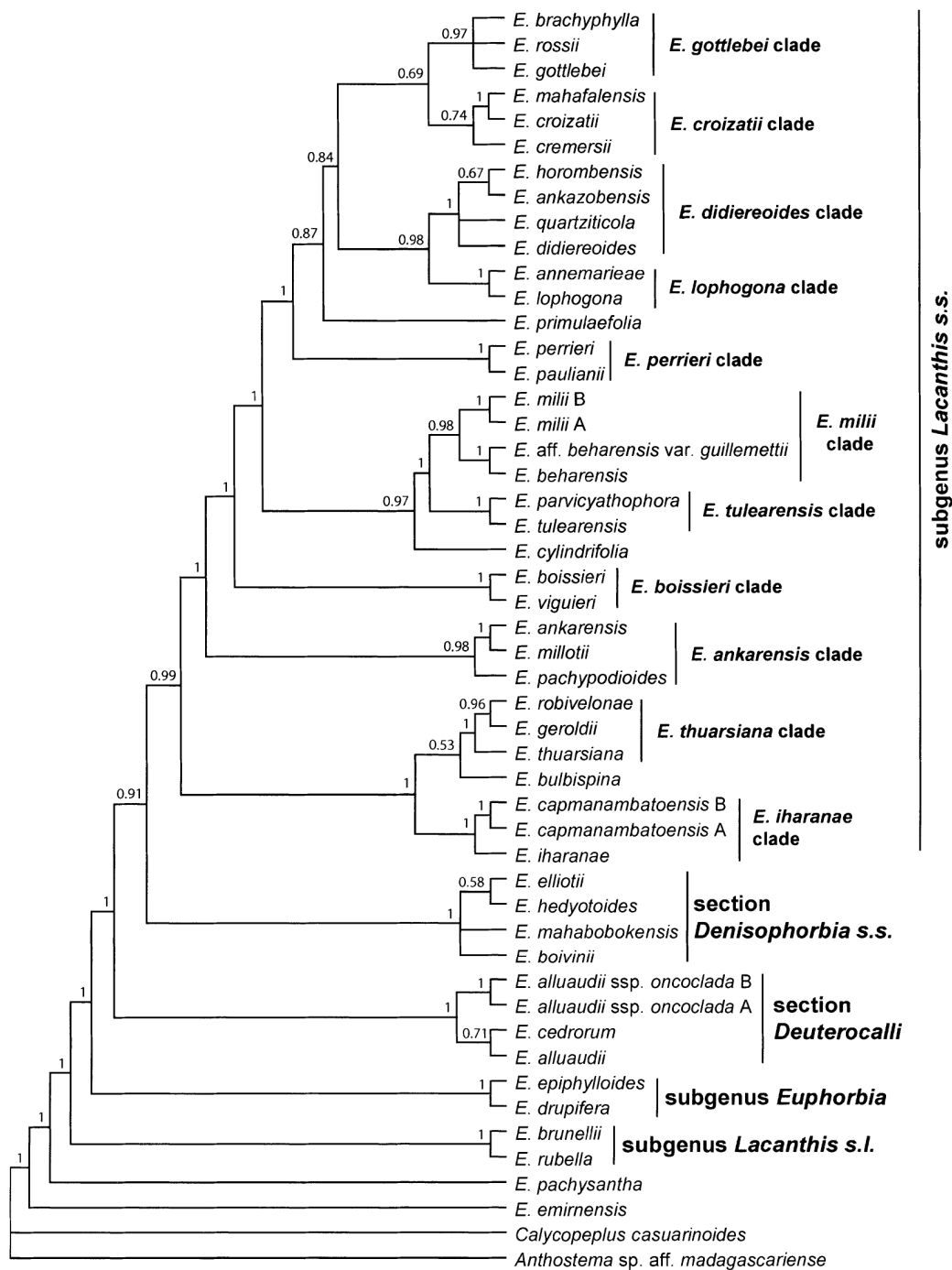


Figure V.9. Arbre de consensus majoritaire (50%-majority rule) des arbres obtenus lors de l'analyse bayésienne de Haevermans et al. (2004). Les probabilités postérieures à chaque nœud sont indiquées (source : Haevermans et al. 2004).

La topologie obtenue avec tous les marqueurs concaténée dispose d'une meilleure résolution que celles issues des travaux antérieurs. Étant donné qu'elle a été générée par une quantité de données plus importante et bien plus représentative de la diversité spécifique et génétique du clade GDD, nous considérons que l'histoire évolutive qu'elle décrit a plus de probabilité d'être proche de la réalité que celles publiées antérieurement.

3. Phylogénie et morpho-écologie des trois sections du clade GDD et des clades de la section *Goniostema*

La section *Deuterocalli*

Comme nous l'avons déjà mentionné, *Euphorbia* section *Deuterocalli* est caractérisée par une très forte homogénéité morphologique. Si jusqu'à aujourd'hui *E. alluaudii* était considérée comme une espèce clairement définie, nos résultats obtenus avec les phylogénies moléculaires et avec les analyses de barcoding ADN (non présentées dans le cadre de cette thèse) tendent à suggérer que nous sommes en présence d'au moins deux espèces différentes (Figure V.7.a.). Ce constat est renforcé par la distribution des deux populations non apparentées *a priori* identifiées comme *E. alluaudii*. Ainsi les individus que l'on trouve sur les hauts plateaux malgaches, ou dans le nord de Madagascar (région de Diego Suarez) sont vraisemblablement plus apparentés à *E. cedrorum* que les individus du milieu sub-aride au sud de la Grande Île. Aucun caractère morpho-anatomique ne nous a permis d'arriver à une conclusion similaire, et étant donné que l'étude morpho-anatomique des euphorbes « corraliformes » est très difficile, particulièrement en raison de l'état de conservation de ces espèces en herbier, il est vraisemblable que seules des études poussées sur le terrain et en laboratoire sur du matériel sélectionné et conservé avec très grand soin pourront fournir des réponses supplémentaires.

La section *Denisophorbia*

Nous disposons d'un échantillonnage représentatif des membres de la section *Denisophorbia* qui permet de discuter pour la première fois sa phylogénie (Figure V.7.a.). Les patrons bioclimatiques observés pour cette section suggèrent une diversification depuis les zones sèches du nord-ouest de Madagascar (*Euphorbia bongolavensis* sur le plateau du Bongolava et *E. martinae*, espèce vraisemblablement restreinte au massif karstique de l'Ankarana près de Diego Suarez) vers le reste de l'île, notamment vers les forêts tropicales d'altitude de l'est (*E. rangovalensis*), vers les côtes sud-est de l'île (*E. elliotii* dans les forêts littorales sur sable et *E.*

hedyotoides dans le bush aride des environs de Fort-Dauphin) et vers les hauts plateaux malgaches (*E. mahabobokensis* et une espèce potentiellement nouvelle du plateau de l'Horombe représentée par le clade des individus apparentés à « *E. sp. 32* »). Il est intéressant de noter qu'*E. ankaranae* et *E. martinae*, qui croissent toutes deux dans la région de l'Ankarana de Diego Suarez²⁹, sur un même substrat karstique, ne sont pas intimement apparentées (Figure V.7.a.). Ainsi les zones karstiques des environs de Diego Suarez ont pu être colonisées au moins deux fois par les espèces de la section *Denisophorbia* ou ont pu constituer une zone ancestrale depuis laquelle toutes les autres espèces se sont diversifiées.

Un aspect particulièrement intéressant de l'histoire évolutive de la section *Denisophorbia* concerne la position phylogénétique des taxa non-malgaches apparentés à *Euphorbia pyrifolia* que nous avons échantillonnés et qui proviennent de Maurice, des Seychelles granitiques et coralliennes, d'Aldabra et de l'île de l'Assomption (*E. physoclada*, espèce des Comores et de Mayotte n'est pas représentée dans notre échantillonnage mais est vraisemblablement un membre de ce groupe). Si tous ces spécimens non malgaches sont inclus dans un même clade avec quelques individus provenant du nord de Madagascar, ils ne forment pas pour autant un groupe monophylétique (Figure V.7.a.). Ainsi bien que les taxa provenant de Maurice et des Seychelles granitiques (*E. aff. pyrifolia* — Maurice et *E. aff. pyrifolia* — Seychelles granitiques) soient intimement apparentés, les individus des Seychelles coralliennes (*E. aff. pyrifolia* — Aldabra et *E. aff. pyrifolia* — Assomption) sont chacun plus proches parents de taxa du nord de Madagascar. Ces résultats sont pour le moins surprenants. L'atoll d'Aldabra est environ à 40 km au nord de l'île de l'Assomption mais à environ 420 km au nord-ouest de Madagascar ; il est donc étonnant que ces taxa soient chacun apparentés à des entités malgaches différentes. En outre il est surprenant que ces clades ne soient même pas prochainement apparentés et que le clade d'*E. aff. pyrifolia* — Assomption soit le plus proche parent du clade d'*E. aff. pyrifolia* — Maurice et d'*E. aff. pyrifolia* — Seychelles granitiques. L'échantillonnage dont nous disposons pour les taxa non malgaches est restreint à quelques îles, ce qui n'est pas suffisant pour proposer un scénario biogéographique solide. Pour ce faire, il faudrait disposer d'un échantillonnage qui prenne en compte la majorité des îles de l'archipel des Seychelles (qui compte environ 115 îles), en se focalisant sur les îlots coralliens qui séparent, sur plus de 1000 km, l'atoll d'Aldabra de l'île principale du pays, Mahé (Seychelles granitiques).

²⁹ *Euphorbia martinae* semble restreinte au massif de l'Ankarana alors que plusieurs autres localités sont connues pour *E. ankaranae* telles que la Montagne des français dans les proches environs de Diego Suarez.

Compte tenu de la grande homogénéité morphologique des espèces de la section *Denisophorbia*, aucun patron morphologique clair n'est distinguable à première vue. *Euphorbia martinae* et *E. elliotii* sont respectivement caractérisées par une succulence des tiges et des feuilles, ce qui pourrait être lié à des phénomènes d'aridité édaphiques vu la faible rétention d'eau opérée par les substrats sur lesquels ces espèces croissent (sols karstiques de l'Ankarana pour *E. martinae* et substrat sableux pour *E. elliotii*). Certains caractères d'intérêts seront discutés plus loin (succulence du système racinaire ou importance de la taille des cyathophylles).

La section *Goniostema*

Comme pour la section *Denisophorbia*, les membres de la section *Goniostema* occupent collectivement les 4 grands domaines bioclimatiques malgaches mais sur une zone de distribution beaucoup plus large étant donné qu'on les retrouve dans toutes les régions de Madagascar. Néanmoins, en termes de représentation au sein de notre jeu de données, les régions sèche et sub-aride priment sur les autres.

Ainsi les espèces basales d'*Euphorbia* section *Goniostema* (**clade d'*E. thuarsiana***, **clade d'*E. leuconeura*** et **clade d'*E. boissieri***) sont toutes présentes dans la zone sèche du nord de Madagascar (à l'exception de 3 espèces fortement apparentées à *E. thuarsiana* et d'*E. boissieri* qui occupent les zones humides du nord de l'île). Il est très intéressant de noter que, quel que soient les milieux écologiques (zone sèches ou forêts plus ou moins humides ; massifs intérieurs de l'île ou falaises en bord des côtes) ou les type de substrats (sol latéritique, substrat sableux ou calcaire (dans les massifs karstiques) occupés par les espèces de ces trois clades, toutes, sans exceptions, croissent dans les régions sèches et humides de la moitié nord de l'île (Figure V.7.a.). Parmi toutes ces espèces, *E. thuarsiana* et *E. viguieri*, que l'on retrouve respectivement dans les sols sableux de la côte est et calcaires dans les zones karstiques de la côte ouest, sont les espèces dont les zones de répartitions s'étendent le plus au sud, dans les environs (côtiers) des latitudes d'Antananarivo.

D'un point de vue morphologique, on peut discerner plusieurs grands modèles. Le **clade d'*E. leuconeura*** est caractérisé par des espèces qui présentent toutes un port de type cactus (ou « cactiformes ») : ils s'agit d'espèces monocauls (ou peu ramifiées) qui possèdent des tiges très succulentes et un système racinaire réduit. Les stipules sont en peignes laciniés plus ou moins développés (particulièrement développés chez *E. leuconeura*) ou en forme d'épines (*E. pachypodioides*). Le **clade d'*E. thuarsiana*** regroupe des espèces épineuses aux port buissonnant (*E. bulbispina* et *E. ambarivatoensis*) ou cactiforme (*E. neohumbertii*, *E.*

iharanae et *E. capmanambatoensis*). Les espèces directement apparentées à *E. thuarsiana* sont arbustives voire arborescentes (*E. thuarsiana*) et ont la particularité de disposer de stipules réduits à des petites glandes plus ou moins découpées. Les trois espèces qui forment le **clade d'*E. boissieri*** ont toutes des tiges très succulentes et des stipules développées qui pour *E. viguieri* sont des épines rigides, de grande taille, et ramifiées qui forment des crêtes épineuses. *Euphorbia guillauminiana* se distingue des deux autres espèces cactiformes de par ses nombreuses ramifications basales qui lui donnent un aspect buissonnant.

Contrairement aux espèces mentionnées ci-dessus, la majorité des taxa du **clade A** occupe la région sub-aride du sud de l'île (Figure V.7.b, c). Si pour les clades basaux de la section *Goniostema* la forme de vie cactiforme est la plus répandue, les espèces du **clade A** sont majoritairement naines avec un système racinaire plus développé que le système aérien (les plantes sont donc géophytes ou chamaephytes naines à caudex) ou en formes de buissons (racines plus ou moins renflées en fonction des espèces). Les formations stipulaires sont toutes sous formes d'épines qui sont souples et de petite taille pour les espèces naines (chamaephytes naines et géophytes) ou rigides et plus ou moins ramifiées pour toutes les autres espèces.

Les individus assignés à *Euphorbia primulifolia* var. *primulifolia* sont les plus proches parents des espèces du **clade A**. Il s'agit de plantes géophytes pour lesquelles seules les feuilles et les cyathia dépassent du sol. Les courtes tiges et le caudex d'où elles sont issues sont strictement souterrains. Ce taxon pousse dans le cœur des hauts plateaux malgaches, aux environs de la capitale (Antananarivo), une zone géographique naturellement pauvre en espèces de la section *Goniostema* (seule certains taxa apparentés à *E. milii* croissent dans la même zone).

La lignée la plus divergente au sein du **clade IV** (*Euphorbia* aff. *primulifolia* — Isalo) ainsi que les espèces des **clades d'*E. decaryi*** et **d'*E. waringiae*** sont des chamaephytes naines aux courtes tiges rampantes (e.g. *E. decaryi*) ou dressées (e.g. *E. waringiae*) qui présentent un caudex souterrain de grande taille. Les parties végétatives des plantes (racines, axes aériens et feuilles) sont très succulentes et les formations stipulaires correspondent à de petites épines souples. Toutes ces espèces poussent dans la zone sud de Madagascar : la région sud des hauts plateaux pour *E. aff. primulifolia* — Isalo (massif de l'Isalo) et *E. aff. primulifolia* — Horombe (plateau de l'Horombe), et dans la région sub-aride des environs de Fort-Dauphin (extrême sud-est de Madagascar) pour toutes les autres (Figure V.7.b). Le **clade d'*E. milii*** regroupe des espèces caractérisées par un port buissonnant analogue à celui d'*E. milii* et par la présence d'épines simples rigides ; les trois taxa basaux du clade (*E. capsaintemariensis*, *E.*

tulearensis et *E. parvicyathophora*) font néanmoins exception, car l'ensemble de leurs caractéristiques morphologiques est analogue à celles des espèces des clades **d'E. decaryi** et **d'E. waringiae**. Si les espèces les plus divergentes occupent la région sub-aride du sud de Madagascar, les lignées dérivées se retrouvent dans les hauts plateaux du nord d'Antananarivo (*E. milii* var. *milii*) ou du sud de l'île (*E. milii* var. *longifolia*, *E. milii* var. *tenuispina*), voire même au bord des rivières dans les forêts tropicales de la côte est (*E. tardieuana*). Le patron biogéographique observé pour le **clade IV** a vraisemblablement son origine dans des événements de dispersion entre le milieu sub-aride du sud et les régions plus au nord (hauts plateaux malgaches et région tropicale humide) ; une dispersion récente vers les hauts plateaux malgaches pourrait expliquer la répartition géographiques des taxa directement apparentés à *E. milii*.

Les espèces du **clade V** montrent une plus grande diversité morphologique et écologique que celles du **clade IV** (Figure V.7.c). Tous les ports manifestés par les membres de la section *Goniostema* sont représentés dans le **clade V** (à l'exception du port arborescent), viz. « cactiforme » (*Euphorbia lophogona*, *E. perrieri*, *E. paulianii*, *E. horombensis*), géophyte (*E. quartziticola*, *E. itremensis*), chamaephytes naines à caudex (*E. labatii*, *E. moratii*, *E. cremersii*), buissonnantes (e.g. *E. berorohae*, *E. kondoi*, *E. croizatii*). Le plus souvent développées sous forme d'épines rigides simples ou ramifiées, les stipules sont réduites à des épines souples et de petite taille pour les espèces géophytes ou naines. Du point de vue de la distribution des espèces, on observe une distinction nette entre les espèces basales du **clade V** et les taxa des clades dérivés. Les espèces des clades qui divergent en premier occupent les zones tropicales humides tout le long de la côte est (*E. lophogona*), les régions sèches du nord et du nord-ouest de l'île (**clade d'E. perrieri**, **clade d'E. pedilanthoides**, *E. labatii*) et les hauts plateaux malgaches (*E. ankazobensis*). Les taxa plus dérivés sont présents dans la partie sud de Madagascar, dans la région sub-aride, à l'exception des cinq espèces du **clade d'E. horombensis** qui croissent sur les hauts plateaux. Il est intéressant de noter que les groupes basaux du **clade V** (**clade d'E. perrieri**, **clade d'E. pedilanthoides**, *E. labatii* et *E. ankazobensis*) présentent des caractéristiques biogéographiques et morphologiques qu'ils partagent avec les espèces les plus basales de la section *Goniostema* et du **clade IV**. Á titre d'exemple, *E. lophogona*, *E. perrieri* et *E. paulianii* présentent toutes un port « cactiforme » analogue à celui rencontré chez les espèces des trois clades les plus basaux de la section *Goniostema* (i.e. **clade d'E. leuconeura**, **clade d'E. thuarsiana**, **clade d'E. boissieri**) ; *E. lophogona* occupe sur la côte est une zone de distribution qui recoupe celle d'*E. thuarsiana* et d'*E. boissieri* ; *E. perrieri* et *E. paulianii* sont

présentes dans le nord et le nord-ouest de l'île sous les latitudes auxquelles on retrouve certaines espèces des clades basaux (e.g. *E. guillauminiana* aux environs de l'île de Nosy Be, *E. viguieri* sur les massifs karstiques de la côte ouest) ; *E. labatii* enfin occupe le massif de l'Ankarana où se retrouve de nombreuses espèces du **clade d'*E. leuconeura*** (*E. alfredii*, *E. ankarensis*, *E. hermanschwartzii* et *E. pachypodioides*).

La phylogénie que nous avons obtenue confirme les résultats d'Haevermans et al. (2004) en suggérant pour *Euphorbia* section *Goniostema* une diversification depuis les milieux secs du nord de l'île (espèces très succulentes « cactiformes ») vers la région sub-aride du sud de l'île, où elle se serait épanouie en adoptant des formes de vie naines (chamaephytes naines et géophytes) ou buissonnantes. Les patrons biogéographiques décrits ci-dessus pour les différents clades de la section *Goniostema* permettent d'avancer l'hypothèse que depuis ces deux grandes régions bioclimatiques, la section *Goniostema* aurait colonisé de façon répétée les milieux humides de la côte est (**clade d'*E. thuarsiana***, *E. boissieri*, *E. tardieuana* et *E. lophogona*) et les hauts plateaux malgaches (les taxa assignés à *E. primulifolia*, plusieurs variétés d'*E. milii*, *E. ankazobensis* et les espèces du clade d'*E. horombensis*).

4. Estimation des temps de divergences pour le clade GDD

Les modèles d'horloge moléculaire ont placé la phylogénie du clade GDD dans un espace temporel, ce qui permet de décrire et de discuter les relations de parenté dans un cadre chronologique. Les temps de divergences estimés pour les deux points de calibration de l'analyse (Figure V.8.), i.e. les nœuds du sous-genre *Euphorbia* et du clade GDD (respectivement clade C et section *Goniostema* sensu Bruyns et al. 2011) sont cohérents avec ceux obtenus par Bruyns et al. (2011). La date moyenne de divergence est néanmoins plus jeune d'environ 3,5 Ma pour le sous-genre *Euphorbia* [29,94 Ma (95% HDP = 22,49–39,56) pour Bruyns et al. (2011) ; 26,3 Ma (95% HDP = 18,54–33,69) pour la présente étude] et plus vieilles d'environ 1,4 Ma pour le clade GDD [12,65 Ma (95% HDP = 7,099–19,62) pour Bruyns et al. (2011) ; 13,25 Ma (95% HDP = 9,19–17,36) pour la présente étude]. Ces différences peuvent être expliquées par de nombreux facteurs tels que les différences d'échantillonnage taxonomique, les régions d'ADN qui ont été analysées ou la méthodologie utilisée (i.e. méthode de reconstruction phylogénétique, qualité et quantité des points de calibration, type de modèle d'horloge moléculaire utilisé, etc.) (voir Sauquet et al. 2012). Les deux analyses diffèrent au niveau de tous ces paramètres : l'étude de Bruyns et al. (2011)

utilise un échantillonnage relativement représentatif de l'ensemble de la diversité du genre *Euphorbia* dans l'Ancien Monde et un échantillonnage relativement faible pour le clade GDD (Tableau V.1.), ce qui est l'inverse de celui que nous avons constitué. Les arbres phylogénétiques obtenus par Bruyns et al. (2011) ont été obtenus en analysant seulement deux régions de l'ADN (ITS et *trnL-F*) alors que nous en avons utilisé huit dans la présente étude. Enfin les points de calibrations choisis ne sont pas les mêmes, ceux que nous avons utilisé étant des calibrations secondaires, directement issus de l'analyse de Bruyns et al. (2011).

Les résultats obtenus par Bruyns et al. (2011) et par la présente étude (Figure V.8.) suggèrent que le clade GDD se serait diversifié à partir du milieu du Miocène (13,25 Ma ; 95% HDP 9,19 – 17,36). La majorité des lignées qui le composent seraient apparues récemment, à partir du Pliocène (autour de 5 Ma). Au regard des grands patrons biogéographiques discutés précédemment, l'époque du Pliocène pourrait ainsi correspondre aux éventuels événements de colonisation du milieu sub-aride du sud de l'île par les espèces actuelles de la section *Goniostema* ou leurs ancêtres. Il s'agit enfin de noter que la date de divergence du clade qui regroupe les espèces non-malgaches de la section *Denisophorbia* (Figure V.8.) semble particulièrement jeune (1,65 Ma ; 95% HDP 0,73 – 2,72), ce qui suggère que les phénomènes de colonisation des îles proches de Madagascar par des membres de la section *Denisophorbia* seraient récents (Pliocène supérieur - Pléistocène).

Toutes les dates de divergence discutées ci-dessus sont néanmoins fortement sujettes à caution. Depuis une vingtaine d'années, l'explosion des études qui visent à fournir des cadres chronologiques aux scénarii évolutifs (voir Kumar 2005, Hedges & Kumar 2009) a été accompagnée d'une polémique grandissante concernant les méthodologies utilisées et les interprétations non-équivoques des résultats obtenus (Graur & Martin 2004). Plusieurs études récentes ont en particulier mis l'accent sur l'importance capitale du choix des points de calibrations dans le but d'obtenir des estimations convaincantes (e.g. Inoue et al. 2010, Ho et al. 2008, Sauquet et al. 2012). Étant donné l'effet considérable des différentes stratégies de calibration sur la variation des dates estimées, ces travaux suggèrent de multiplier les points de calibration, si possible liés à des fossiles identifiés et datés de façon satisfaisante (points de calibration primaire). L'unique utilisation de points de calibration secondaires a pour effet de rajeunir (souvent de façon excessive) les âges estimés, d'autant plus si un seul point de calibration est utilisé (Sauquet et al. 2012). Malheureusement, avec l'échantillonnage rassemblé pour notre étude, l'utilisation des points de calibrations primaires n'est pas possible : d'une part le registre fossile du genre *Euphorbia* est très pauvre, d'autre part nous ne disposons pas de l'échantillonnage nécessaire pour inclure des genres qui sont représentés

par du matériel fossile. En outre, vu la relative jeunesse des lignées étudiées (Miocène-Pliocène-Pléistocène), il n'est pas possible d'utiliser des dates de vicariance (e.g. séparation entre Madagascar et l'Afrique) pour calibrer l'arbre. Finalement, les points de calibrations utilisés sont des secondaires, obtenus à partir des travaux de Bruyns et al. (2011). Au regard des limites méthodologiques qui ont été mentionnées ci-dessus, le cadre chronologique que nous avons définis pour le clade GDD est donc sujet à caution et ne peut être considéré comme tel. Il s'agit néanmoins du premier essai de datation moléculaire pour un échantillonnage représentatif du clade d'euphorbe malgache le plus diversifié, le clade GDD.

V. Conclusions et perspectives

Les tentatives de reconstruction fine des liens de parenté au sein des euphorbes malgaches (et plus particulièrement au sein du clade GDD, constitué par les sections *Denisophorbia*, *Deuterocalli* et *Goniostema*) se sont toujours heurtées à deux écueils majeurs : la faible représentativité des échantillonnages taxonomiques utilisés et le petit nombre de régions de l'ADN utilisées. Les travaux déjà publiés sont le plus souvent des « phylogénies de régions de l'ADN » donnant des résultats souvent contradictoires, et dont les échantillonnages taxonomiques ne sont en aucune manière représentatifs de la diversité des euphorbes malgaches (tout particulièrement du clade GDD), à l'exception des analyses d'Haevermans et al. (2004) et de Zimmermann et al. (2010).

La présente étude a remédié à ces points faibles en proposant un échantillonnage non-seulement représentatif de la diversité inter-spécifique mais aussi de la diversité intra-spécifique de nombreuses espèces appartenant au clade GDD. En outre, la prise en compte de huit régions issues de l'ADN nucléaire et chloroplastique a permis de décrire et d'analyser les incongruences éventuelles entre phylogénies issues de marqueurs différents. Enfin, l'utilisation de données publiées sur la datation moléculaire des euphorbes de l'Ancien Monde (Bruyns et al. 2011) et la mise en relation de l'histoire évolutive du clade GDD et des connaissances sur la distribution et la morphologie des espèces, nous ont permis de discuter la topologie dans un cadre temporel et biogéographique.

Il a été montré que les analyses phylogénétiques effectuées avec les régions nucléaires d'une part et les marqueurs chloroplastiques d'autre part n'infèrent pas les mêmes scénarios évolutifs, ce qui dans ce cas précis suggère une non-coalescence entre les domaines nucléaires et chloroplastiques de l'ADN. La phylogénie qui incorpore toute l'information nucléotidique est à l'heure actuelle la phylogénie publiée qui reflète vraisemblablement le mieux l'histoire

évolutive des espèces du clade GDD mais certaines relations restent sujettes à caution telles que la monophylie de la section *Goniostema* et son positionnement phylogénétique. Les relations de parenté déjà discutés par Haevermans et al. (2004) ont été retrouvés dans l'ensemble mais les liens de parenté entre les espèces de la section *Goniostema* ont été affinés et discutés en détail notamment par rapport à leurs patrons biogéographiques et morphologiques ; la section *Denisophorbia* a pour la première fois fait l'objet d'une discussion dans un cadre phylogénétique, tout particulièrement en ce qui concerne les espèces non-malgaches du groupe. D'un autre côté, ces études phylogénétiques ont contribuées à la réflexion sur les circonscriptions de certaines espèces. Elles nous ont amené à mettre en doute la monophylie de la circonscription actuelle par exemple des espèces telles que *E. alluaudii*, *E. primulifolia*, *E. milii* ou des espèces apparentées à *E. mahafalensis*. Enfin la phylogénie du clade GDD a été incluse dans un cadre temporel, ce qui suggère une origine récente pour le groupe (milieu du Miocène) (voir aussi Bruyns et al. 2011) ; toutefois, les incertitudes relatives à l'estimation des temps de divergence ne nous ont pas permis de discuter en détail l'hypothèse chronologique inférée.

Notre travail ouvre la voie à tout un panel d'analyses plus poussées, notamment en ce qui concerne l'étude des incongruences topologiques, des scénarii biogéographiques, l'amélioration de l'estimation des dates de divergence et l'exploration des tempi de diversification au cours du temps. L'utilisation de méthodes d'analyses de coalescence dans un cadre de phylogénie inter-espèces (e.g. Star BEAST — Heled & Drummond 2010) est prometteuse car elle permet d'estimer un arbre phylogénétique commun issu des topologies inférées pour chacune des régions étudiées. Compte tenu qu'il est vraisemblable que les régions chloroplastiques et nucléaires de l'ADN que nous avons utilisées ici, n'aient pas suivi la même histoire évolutive, l'emploi de ces méthodes nous permettrait *a priori* d'obtenir une topologie plus proche de l'histoire évolutive des espèces. Cette approche est encore en cours de test, et les premiers résultats montrent des problèmes de convergence. Afin d'émettre des hypothèses quand aux aires biogéographiques ancestrales de chacun des grands groupes du clade GDD, nous réfléchissons à la circonscription de ces aires et aux méthodologies utilisables. Enfin, afin de confirmer (ou d'infirmer) les dates de divergence estimées ici, nous tenterons d'améliorer la calibration des analyses, si possible à l'aide de matériel fossile dont la datation et l'identification sont fiables.

Chapitre 6

Diversification et évolution morphologique dans *Euphorbia* sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli* à Madagascar

I. Introduction

Le clade GDD (i.e. le clade composé des sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli*) regroupe ~ 70% des espèces d'euphorbes malgaches (fide Haevermans et al. 2009, Dorsey et al. sous presse). Ces espèces présentent des phénotypes morphologiques très variés : vraies géophytes pour lesquelles seuls les bourgeons et les feuilles dépassent du sol ; chamaephytes naines qui possèdent un caudex et des courtes tiges rampantes ou dressées ; chamaephytes monocaules très succulentes à stipules plus ou moins développées qui ressemblent à des Cactaceae ; plantes à port arbustif, inermes ou à épines développées ; espèces arborescentes de grandes tailles, inermes, aphylls ou avec des feuilles développées. Elles occupent en outre tous les biomes de Madagascar, des forêts tropicales humides de l'est de la Grande Île aux forêts sub-arides du Sud. Certains caractères morphologiques tels que la présence d'un système racinaire renflé, la succulence des organes foliaires ou la forme des organes stipulaires sont particulièrement variables dans ce groupe.

D'un point de vue biogéographique, toutes les espèces de ce clade sont endémiques de Madagascar à l'exception de deux membres d'*Euphorbia* section *Denisophorbia*, (*E. pyrifolia* et *E. physoclada*), endémiques d'îles des alentours de Madagascar : les Seychelles coralliennes (îles extérieures, e.g. atoll d'Aldabra et île de l'Assomption) et granitiques (îles intérieures des Seychelles), les Comores et Maurice (espèces *a priori* absentes de la Réunion et de Rodrigues). Avec la section *Tirucalli*, la section *Denisophorbia* est le seul groupe d'euphorbes malgaches du sous-genre *Euphorbia* qui contient des espèces non-malgaches. L'élucidation, dans un cadre chronologique, de l'histoire évolutive de ce clade peut apporter des informations sur l'évolution des caractères morphologiques partagés par les espèces. Elle permet en outre d'investiguer une question aussi cruciale que les dynamiques évolutives au sein du clade GDD tout particulièrement en ce qui concerne la section *Goniostema*.

Les analyses phylogénétiques effectuées au cours de ce travail de thèse ont permis d'obtenir pour le clade GDD le squelette phylogénétique le plus résolu disponible à l'heure actuelle (cf. Chapitre 5). Les relations de parenté hypothétiques sont en majorité soutenues et

donc statistiquement crédibles. Il a en outre été montré qu'elles faisaient *a priori* sens en termes morphologiques et écologiques. Comme cela a déjà été noté, la section *Goniostema* est de loin la plus riche des trois sections du groupe GDD, tant au niveau du nombre d'espèces qu'au niveau de la diversité morphologique ou écologique. Le **clade A** en particulier (cf. Chapitre 5) concentre la majorité des espèces et présente les patrons écologiques et morphologiques les plus variables. Il comprend ainsi toutes les espèces de la section *Goniostema* de la zone sub-aride du sud de Madagascar ainsi que des espèces occupant toutes les autres grandes zones biogéographiques. Tous les traits morphologiques importants rencontrés dans le clade GDD se retrouvent représentés dans le **clade A** (à l'exception du port arborescent).

Le clade GDD constitue ainsi un groupe d'étude exemplaire pour amorcer la description et la discussion des phénomènes évolutifs qui sont potentiellement moteurs de la biodiversité. Haevermans et al. (2004) avait suggéré une diversification d'*Euphorbia* sect. *Goniostema* [sous le nom *E.* subg. *Lacanthis* Gilbert (Rafinesque)] depuis le nord de la Grande Île vers le sud, en liaison avec une adaptation des espèces au climat sub-aride du sud de l'île. Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse permettent de reformuler cette hypothèse (cf. Chapitre 5). L'acquisition d'un cadre temporel grâce aux analyses mettant en jeu une datation moléculaire (i.e. analyses sous BEAST — Chapitre 5) nous permet d'estimer si les taux de diversification sont restés constants à travers le temps, ou si l'on observe effectivement une radiation évolutive des espèces de la section *Goniostema* depuis le nord vers le sud de l'île. En corrélant ces résultats à l'histoire évolutive de caractéristiques morphologiques majeures des espèces du clade GDD, nous espérons déterminer si les éventuels événements à fort tempi de diversification sont corrélés à l'acquisition de particularités morphologiques.

Afin de répondre à ces questions, nous estimerons dans un premier temps la vitesse de diversification au sein du clade GDD. Nous pourrions ainsi identifier et décrire les accélérations ou décélérations potentielles du taux de diversification pour le groupe GDD. Nous couplerons cette étude à la reconstruction de l'histoire évolutive d'un jeu de caractères morphologiques clés (i.e. caractérisés par leur haute variabilité ou par leur importance physiologique). Ceci nous permettra d'estimer si les éventuelles différences dans les tempi de diversification peuvent être *a priori* liées à une (ou des) évolution(s) donnée(s) de ces caractères morphologiques.

II. Matériel et Méthodes

1. *Echantillonnage taxonomique*

Le squelette phylogénétique utilisé pour les analyses correspond à la topologie ultramétrique datée qui a été obtenue précédemment avec le logiciel BEAST en utilisant les huit régions de l'ADN nucléaire et chloroplastique étudiées dans le cadre de cette thèse (cf. Chapitre 5). Ce choix est motivé par les deux raisons suivantes : (1) il s'agit de la topologie la plus résolue, pour laquelle la majorité des liens de parenté dispose d'un fort soutien statistique (particulièrement au niveau spécifique) ; (2) cette phylogénie prend en compte les données de l'ADN nucléaire et chloroplastique et fournit à ce titre une approximation de l'histoire évolutive réelle du groupe, meilleure que si une seule région de l'ADN ou un seul domaine de l'ADN était pris en compte.

Néanmoins, étant donné l'importance de l'échantillonnage taxonomique choisi pour effectuer les analyses phylogénétiques, et vu qu'il est nécessaire de ne disposer que d'un individu par espèce pour cette partie de notre étude, il a tout d'abord été nécessaire de sélectionner les individus et les taxa à inclure ou exclure des analyses. Dans un premier temps, nous avons éliminé tous les taxa du groupe externe (espèces des sous-genres *Esula*, *Rhizanthium*, *Chamaesyce* et des sections *Tirucalli*, *Tetraptera*, *Pachysanthae*, *Euphorbia*, *Monadenium*). Compte tenu que les groupes externes étaient représentés ici par un échantillonnage taxonomique réduit (couplé à une diversité morphologique considérable), nous avons préféré nous concentrer sur l'histoire évolutive de la section *Denisophorbia* et surtout de la très diverse section *Goniostema*. La section *Deuterocalli*, groupe d'une très grande homogénéité morphologique qui occupe une position sœur par rapport aux sections *Goniostema* et *Denisophorbia* (Partie II), enracine donc l'arbre qui est utilisé pour les analyses suivantes.

Au niveau du groupe interne (clade GDD), nous avons gardé les taxa qui peuvent être identifiés comme des espèces à part-entière avec le moins d'ambiguïté possible. Nous avons ainsi exclu tous les individus qui étaient reliés à des déterminations ou des concepts d'espèces ambigus. De manière à ne garder qu'un représentant par espèce nous avons éliminé l'ensemble de l'échantillonnage intra-spécifique. Pour ce faire, nous nous sommes principalement basés sur les individus qui disposent de la meilleure traçabilité, et de la plus grande quantité et qualité d'information. Il s'agit en grande majorité des échantillons que nous avons récoltés directement sur le terrain et pour lesquels nous disposons d'un herbier (et éventuellement d'échantillons en alcool) lié à des coordonnées géographiques, à des supports

iconographiques (photographies) et à des informations de récoltes détaillées (e.g. sur la morphologie et l'écologie).

Lorsque les regroupements d'échantillons étaient cohérents avec les identifications morphologiques et que les concepts d'espèces apparaissaient comme monophylétiques, nous avons sélectionné un des individus et exclu tous les autres. Dans certains cas, des échantillons appartenant *a priori* à la même espèce n'étaient pas étroitement apparentés. La raison majeure de ces incongruences est vraisemblablement à rechercher dans le processus d'identification morphologique (cf. Chapitre 5). Pour certaines espèces, et en particulier pour les espèces arbustives (morphologiquement semblables à *Euphorbia milii*) et naines à caudex (e.g. *E. decaryi*, *E. ambovombensis*), les informations taxonomiques sont ambiguës. En effet, les descriptions sont souvent incomplètes ou vagues et ne se rapportent généralement qu'à la seule récolte type. En outre, les variations phénologiques peuvent être importantes : absence ou présence d'épines en fonction de l'âge de l'individu, importantes variations de la taille, de la couleur ou même de la sexualité des cyathia, grande plasticité des organes végétatifs (feuilles, ramifications aériennes et souterraines), etc. Ainsi, si les identifications morphologiques sont réalisées par des non spécialistes, sur du matériel difficile à identifier (individus stériles ou jeunes) ou potentiellement sujet à des phénomènes d'hybridation (échantillons en collections vivantes), elles sont *a priori* particulièrement douteuses.

Dans le cadre de notre travail, certaines espèces sont représentées en partie ou en totalité par ce type d'échantillon dont la détermination est problématique. Dans le cas où les échantillons associés à une même espèce n'étaient pas étroitement apparentés dans notre phylogénie et que l'erreur d'identification était possible ou même probable, nous avons sélectionné pour représenter l'espèce un échantillon appartenant au clade formé par les individus récoltés et identifiés dans les meilleures conditions (i.e. nos récoltes personnelles ou les échantillons dont l'identification est la plus fiable). De cette façon, nous avons inclus les espèces *E. pedilanthoides*, *E. kondoi*, *E. rossii*, *E. beharensis* et *E. perrieri*.

Comme cela a déjà été mentionné (cf. Chapitre 5), il est impossible de préciser les concepts d'espèces pour les entités proches d'*E. mahafalensis* (i.e. *E. retrospina*, *E. razafindratsirae*, *E. croizatii*, *E. rubrostriata*, et *E. hoffstaetteri*), ainsi que pour les variétés apparentées à *E. milii* et aux espèces naines à caudex du sud de l'île (e.g. les sous-espèces d'*E. decaryi* ou d'*E. francoisii*). Nous avons adopté des stratégies d'échantillonnage différentes en fonction des problèmes taxonomiques rencontrés.

Les espèces apparentées à *E. mahafalensis* présentent avec cette dernière espèce une forte homogénéité morphologique (plantes buissonnantes et épineuses à cyathophylles plus ou

moins striées) et écologique (milieux sub-aride de Madagascar dans les environs de Tuléar). Les caractères discriminants sont peu nombreux et fortement sujets aux variations phénotypiques telles que la striation des cyathophylles ou la spination des branches. L'ambiguïté des descriptions d'espèces rend enfin toute détermination hasardeuse. Quelle que soit l'espèce à laquelle les échantillons ont été *a priori* assignés au moment de la récolte ou après celle-ci, nous avons donc choisi de les considérer comme appartenant à un même UTO que nous avons appelé « Complexe d'*E. mahafalensis* ».

Les différentes variétés apparentées à *Euphorbia milii* ne forment pas un groupe monophylétique dans nos arbres phylogénétiques (cf. Chapitre 5) ; certaines variétés sont plus apparentées à d'autres espèces qu'aux autres représentants d'*E. milii*. Étant donné qu'il n'était pas possible de circonscrire précisément chaque variété échantillonnée, nous avons décidé de réduire *E. milii* à deux UTOs monophylétiques pour lesquels nous disposons du maximum de renseignements géographiques et morphologiques. Ces deux UTOs présentent l'avantage de disposer d'aires de répartition très distinctes et d'avoir été récoltés récemment. L'un est déterminé comme la forme typique d'*E. milii* (*E. milii* spp. *milii*) et croît sur les hauts plateaux dans les environs du Lac Alaotra. Il comprend 4 échantillons qui forment un groupe monophylétique (*boot* = 100% ; *pp* = 1), directement apparenté à *E. tardieuana*. Le deuxième UTO correspond à la variété *E. milii* var. *longifolia* et est originaire des inselbergs du plateau de l'Horombe. Il est représenté dans notre jeu de données par 11 échantillons qui forment un groupe monophylétique (*boot* = 91% ; *pp* = 1) apparenté à d'autres représentants d'*E. milii*. Utiliser ces deux UTOs dans nos analyses nous permet de représenter une partie de la diversité d'*E. milii* (qui compte au total 6 variétés différentes fide Haevermans et al. 2009).

Euphorbia capuronii, *E. itampolensis*, *E. brachyphylla*, *E. ankazobensis* ainsi que deux variétés d'*E. milii* (*E. aff. milii* var. *tulearensis* et *E. aff. milii* var. *vulcanii*) font toutes partie du même grand clade (**clade V**), et ont été exclues des analyses. Nous disposons en effet de très peu d'informations sur la morphologie et l'écologie de ces taxa qui ne sont connus que de leurs récoltes types. En outre, l'échantillonnage moléculaire provient des collections vivantes et reste donc sujet à caution. Enfin, la monophylie de ces taxa n'est pas clairement avérée, notamment en raison d'un trop faible échantillonnage intra-spécifique (cf. Chapitre 5).

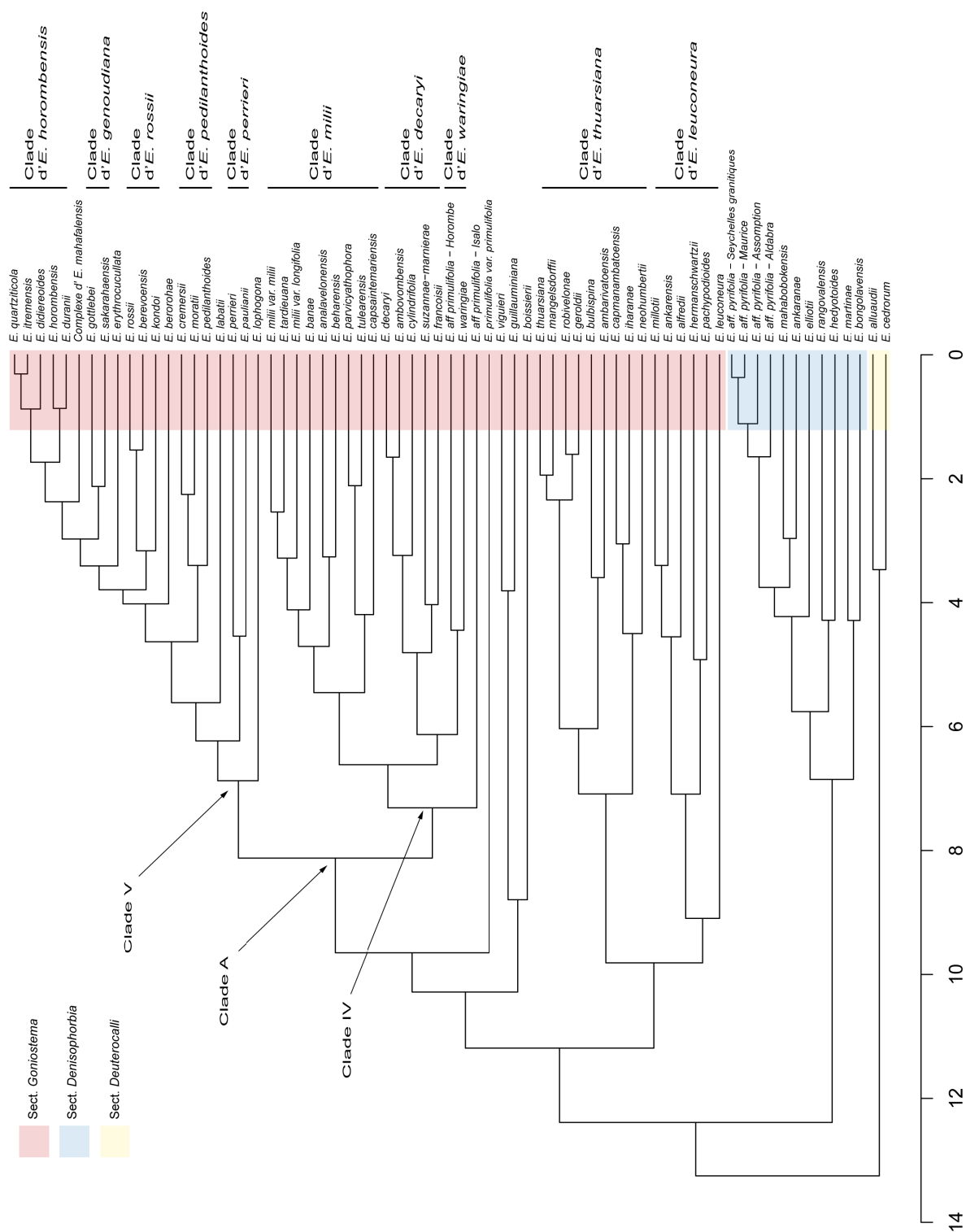
Les analyses phylogénétiques incluant un échantillonnage issu de travaux de récoltes récents ont montré que certains concepts d'espèces sont à l'évidence paraphylétiques, comme dans le cas des échantillons associés aux espèces *Euphorbia primulifolia* et *E. alluaudii* (cf. Chapitre 5). Dans le cas d'*E. primulifolia*, étant donné que les individus apparentés à cette espèce forment trois clades non apparentés bien soutenus qui correspondent à trois

morphotypes différents et à trois zones géographiques distinctes (hauts plateaux tananariviens, Parc national de l'Isalo et plateau de l'Horombe), il est vraisemblable qu'il s'agisse de trois espèces différentes. Nous avons donc identifié l'espèce des hauts plateaux, d'où est originaire l'échantillon type d'*E. primulifolia* s.str. (= *E. primulifolia* var. *primulifolia*) et nous avons nommés les deux autres UTOs suivant leurs répartitions géographiques (*E. aff. primulifolia* — Isalo et *E. aff. primulifolia* — Horombe). Dans le cas d'*E. alluaudii*, il n'a pas été possible d'identifier des différences morphologiques ou écologiques claires entre les deux espèces potentielles (cf. Chapitre 5). Dans l'attente d'un futur travail de révision taxonomique, nous avons décidé de ne prendre en compte qu'une seule population et de la considérer comme représentative d'*E. alluaudii*. Cette solution n'est pas entièrement satisfaisante mais permet de prendre en compte cette espèce, particulièrement intéressante de part sa morphologie unique (espèce coralliforme) et sa très large zone de répartition.

La section *Denisophorbia* n'est elle aussi pas exempte d'ambiguïtés taxonomiques. Nous avons essayé de les réduire au minimum tout en gardant une bonne représentativité taxonomique de la section. Tous les échantillons indéterminés ont ainsi été retirés des analyses à l'exception de ceux originaires des îles proches de Madagascar apparentés à *Euphorbia pyrifolia*, qui forment un groupe monophylétique avec quelques taxa du nord de Madagascar (cf. Chapitre 5). Étant donné que nous n'avons pas le matériel nécessaire pour déterminer si l'on est en présence de plusieurs espèces ou d'une seule espèce présente sur chacune des îles, et vu que la morphologie et l'écologie de ces espèces sont particulièrement variables, nous avons décidé d'assigner aux entités issues d'îles différentes des noms différents. Nous décrivons ainsi 4 taxons différents sous les noms de « *E. aff. pyrifolia* — Seychelles granitiques », « *E. aff. pyrifolia* — Aldabra », « *E. aff. pyrifolia* — Assomption », « *E. aff. pyrifolia* — Maurice ».

Au final, l'échantillonnage sélectionné pour le groupe GDD compte 69 taxa dont 56 pour la section *Goniostema*, 11 pour la section *Denisophorbia* et 2 pour la section *Deuterocalli* (Figure VI.1.). Suivant Haevermans et al. (2009) et Dorsey et al. (sous presse), ceci correspond à ca. 75% de la diversité spécifique du groupe GDD, et en particulier à environ 75% de la diversité de la section *Goniostema*. La quasi-totalité des espèces qui ne sont pas échantillonnées n'ont jamais été collectées depuis la récolte type, toujours fragmentaire et peu-informative. Les monographies de ces espèces enfin présentent des descriptions vagues et ambiguës, ce qui complexifie considérablement l'identification de ces taxa (voir Chapitre 1 — Tableau I.2.). Nous considérons donc que l'échantillonnage spécifique constitué ici est largement représentatif de la diversité du groupe GDD. Tout en

conservant les longueurs de branches obtenues avec l'analyse BEAST, la phylogénie a été réduite de 279 feuilles à 69 feuilles (ou 69 taxa) en utilisant la fonction « drop.tip » du package APE 3.0-5 (Paradis et al. 2004) implémenté par le logiciel libre R (R Development Core Team 2008). Cette topologie réduite (Figure VI.1.) a été utilisée pour estimer l'histoire évolutive des traits morphologiques et pour caractériser les tempi de diversification.



← **Figure VI.1.** Arbre phylogénétique réduit du clade GDD. Cette topologie est dérivée du consensus majoritaire calculé sur la base des arbres issus de l'analyse de la matrice nucléotidique totale sous BEAST (cf. Chapitre 5). Les entités que nous avons exclues des analyses ont retiré de la topologie d'origine à l'aide de la fonction « drop.tip » du package APE 3.0-5.

2. *Exploration des tempi de diversification*

Les taux de diversification ont été estimés et analysés à l'aide des packages APE 3.0-5, LASER 2.3 (Rabosky 2006a) et GEIGER 1.3-1 (Harmon et al. 2008) du logiciel R. Les variations des taux de diversification au cours du temps ont été inspectées visuellement en utilisant un outil graphique appelé « Lineage-through-time » (ou LTT en forme abrégée). Ces graphes ont été construits en utilisant la topologie consensus réduite à 69 espèces ; y figurent le logarithme du nombre de lignées (i.e. le nombre d'évènements de spéciation), en fonction des dates de séparation des différentes lignées (i.e. les dates des évènements de spéciation). Ces « semi-logarithmic LTT plots » permettent la discussion qualitative des tempi de diversification : en comparant la courbe obtenue (plus précisément la pente de la courbe obtenue) avec celles construites à l'aide de données simulées par modélisation suivant un taux de diversification constant, il est possible de discuter la variabilité relative des taux de diversification au cours de l'histoire évolutive du clade GDD.

Les variations des taux de diversification sont souvent explorées au moyen de méthodes statistiques implémentés par les packages LASER et GEIGER (Schweizer et al. 2011, Ober & Heider 2010, Antonelli & Sanmartín 2011, Alfaro et al. 2009a, Santini et al. 2009). Le computation de l'indice gamma (γ) permet de déterminer si les taux de diversification sont constants au court du temps : cette mesure compare la position relative des âges des nœuds internes d'une phylogénie avec celle attendue suivant un modèle de simple spéciation (Yule) pour lequel le taux de spéciation est constant au court du temps (Yule 1925). Si γ n'est pas centré sur 0 de manière significative ($p < 0,05$), l'hypothèse de stabilité du taux de diversification est rejetée, ce qui suggère une histoire évolutive présentant des taux de diversification variables au cours du temps. Si $\gamma < 0$ ou si $\gamma > 0$ (et $p < 0,05$), ceci indique que les distances entre les nœuds internes sont respectivement plus longues ou plus courtes lorsque l'on se rapproche de l'époque actuelle (i.e. quand t tend 0) que cela ne l'est prévu par la modélisation de Yule à taux de spéciation constant (Pybus & Harvey 2000).

Dans un deuxième temps, afin de confirmer le test γ , et en vue d'identifier de potentielles variations temporelles des taux de diversification au sein de la phylogénie du clade GDD, nous avons utilisé le test « Birth-Death Likelihood » (BLD) implémenté par le package LASER (Rabosky 2006a). Cette approche de maximum de vraisemblance mesure l'adéquation d'une série de modèles à taux constant ou variable en comparant les critères

d'Akaike (AIC) calculés pour chaque modèle. Au total, cinq modèles de diversification ont été comparés suivant la méthode décrite par Rabosky (2006b).

Les deux modèles à taux constant testés correspondent à un modèle de Yule (« pure birth ») et un modèle présentant un taux de spéciation (b) et un taux d'extinction (d), le taux global de diversification (b – d) étant constant au cours du temps (« birth-death model »). Les trois modèles à taux variables comprennent deux modèles dont le taux de spéciation est fonction du nombre de lignées à un temps t (modèles ainsi nommés « density-dependant speciation rates models »). Cette relation entre le taux de spéciation et la densité taxonomique est soit d'ordre exponentielle (modèle « DDX »), soit d'ordre lognormal (modèle « DDL ») (Rabosky 2006b). Le dernier modèle implémenté est un modèle variable présentant à un temps t un événement de changement dans le taux de diversification (ou « rate shift »). Il s'agit donc d'un modèle à deux taux de diversification (ou « Yule-2-rates model »).

L'AIC du modèle à taux constant le plus adéquat (i.e. celui avec le plus important AIC) est comparé à l'AIC du modèle à taux variable le plus adéquat afin de déterminer lequel des deux modèles représente le mieux les données ($\Delta AIC_{RC} = AIC_{RC} - AIC_{RV}$ — Rabosky 2006b). ΔAIC_{RC} est positif quand le modèle à taux variable est le plus adéquat ; il est négatif dans le cas contraire. Afin de réduire le risque de réaliser une erreur de Type I (i.e. rejeter de manière incorrecte l'hypothèse nulle selon laquelle le taux de diversification est constant), nous avons calculé le 95^e centile de la distribution des valeurs du ΔAIC_{RC} obtenues à partir de 1000 simulations phylogénétiques. Ces simulations ont été obtenues en considérant un taux de diversification constant dans le temps, sous l'hypothèse d'un modèle de Yule [le taux de spéciation (b) utilisé est celui obtenu précédemment lors du test BLD]. Nous avons alors pu comparer la distribution des valeurs du ΔAIC_{RC} obtenu avec les données simulées, au ΔAIC_{RC} résultant des données empiriques. Il a ainsi été possible de déterminer la significativité statistique du ΔAIC_{RC} estimé pour les données du clade GDD. Toutes les estimations obtenues pour chacune de ces analyses statistiques, ainsi que la mise en évidence des modèles sélectionnés sont fournies (Tableau VI.3.).

L'ampleur de l'échantillonnage taxonomique utilisé a un impact évident sur l'interprétation des résultats statistiques des tests gamma et BDL. Il a été montré récemment (Cusimano & Renner 2010) qu'en l'absence d'un échantillonnage quasi-complet des espèces d'un groupe (i.e. plus de 80% des espèces), le sur-échantillonnage des nœuds profonds peut biaiser les interprétations, i.e. faire conclure à tort à un ralentissement au cours du temps du taux de diversification (soit un modèle de diversification dépendant de la densité, DDX ou DDL). Nous disposons d'un large échantillonnage représentatif du clade GDD qui regroupe

plus de 75% des espèces du groupe. Comme nous l'avons déjà discuté précédemment, vu le caractère énigmatique des espèces qui ne sont pas prise en compte, nous pouvons considérer que nous avons échantillonné la quasi-totalité des espèces du clade GDD reconnues à ce jour et que la part d'espèces non-échantillonnées est négligeable. Étant donné que les techniques développées jusqu'ici pour palier aux problèmes de sous-échantillonnage considèrent que le sous-échantillonnage est distribué au hasard au sein de la phylogénie, elles ne sont pas satisfaisantes (Cusimano et al. 2012). Dans l'attente du développement de méthodes adaptées à la prise en compte de sous-échantillonnages taxonomiques non aléatoires, nous avons complété ces analyses par l'application d'un algorithme d'évaluation des taux de diversification qui permet d'incorporer les espèces manquantes.

Développée par Alfaro et al. (2009a) au sein du package GEIGER, la méthode MEDUSA (« Modeling Evolutionary Diversification Using Stepwise AIC ») teste l'adéquation d'une série de modèles BD (« birth-death models ») à complexité croissante (i.e. le nombre d'évènements de changements de taux de diversification augmente de plus en plus); la vraisemblance, le critère d'Akaike (AIC) et les paramètres de spéciation et d'extinction de chaque modèle sont estimés conjointement. L'algorithme estime tout d'abord l'ensemble des paramètres et des indices (ML et AIC) pour le modèle le plus simple, c'est-à-dire le modèle constant à deux paramètres [spéciation (b) et extinction (d)], sans changement dans le taux de diversification. La deuxième étape rajoute de la complexité en incorporant au modèle constant un évènement de changement de taux de diversification sur une des branches de l'arbre phylogénétique. Cette branche définit un clade pour lequel des taux de spéciation et d'extinction différents du reste de l'arbre sont calculés. Le nombre de paramètres estimés passe donc de deux à cinq (deux paramètres de spéciation, deux paramètres d'extinction et la date de l'évènement de changement dans le taux de diversification).

Si le modèle le plus complexe améliore le critère AIC, il est retenu. Une différence de plus de quatre unités entre les critères AIC des deux modèles est la limite communément admise pour considérer que l'amélioration est significative³⁰ (Alfaro et al. 2009a, Burnham & Anderson 2003). La procédure continue en ajoutant des évènements de changements de taux de diversification sur d'autres branches de l'arbre jusqu'à ce que la limite de l'amélioration du critère AIC soit atteinte. Un processus d'élimination inverse (« backwards elimination

³⁰ A titre d'exemple, considérons deux modèles, l'un des deux étant plus complexe que l'autre (i.e. plus paramétré) : si le critère AIC obtenu pour le modèle le plus complexe est supérieur de plus de 4 unités au critère AIC calculé pour le modèle plus simple, il est sélectionné. Dans le cas contraire c'est le modèle le plus simple qui est retenu.

procédure ») enlève ensuite un à un ces événements et réévalue tous les modèles. Après ces deux étapes, le modèle calculé comme le plus vraisemblable est sélectionné.

La méthode MEDUSA permet ainsi de déterminer pour une histoire évolutive donnée des régions de la topologie pour lesquelles les taux de diversification seraient significativement différents du reste de l'arbre phylogénétique. Cette méthode est particulièrement adaptée à l'étude de groupes taxonomiques pour lesquels l'échantillonnage n'est pas complet. En effet, l'algorithme prend en compte un indice de richesse taxonomique assigné à chaque feuille (i.e. chaque espèce) de la phylogénie. Étant donné que l'échantillonnage est quasi complet, la grande majorité des indices de richesses sont de 1. Les taxa qui ont été exclus des analyses en raison de leur ambiguïté (cf. II.1.) ont néanmoins été pris en compte en se basant sur la phylogénie BEAST obtenue avec les 8 régions de l'ADN (cf. Chapitre 5). Chaque taxon pour lequel l'indice de richesse est supérieur à 1 est donné, avec les taxa qu'il représente, dans le Tableau VI.1.

"Complexe d' <i>E. mahafalensis</i> " (IR = 5)	<i>E. mahafalensis</i>
	<i>E. retrospina</i>
	<i>E. razafindratsIRae</i>
	<i>E. croizatii</i>
	<i>E. hoffstaetteri</i>
<i>E. gottlebei</i> (IR = 3)	<i>E. gottlebei</i>
	<i>E. genoudiana</i>
	<i>E. capuroni</i>
<i>E. analavelonensis</i> (IR = 2)	<i>E. analavelonensis</i>
	<i>E. milii</i> var. <i>bevilaniensis</i>
<i>E. francoisii</i> (IR = 2)	<i>E. francoisii</i>
	<i>E. francoisii</i> var. <i>crassicaulis</i>
<i>E. lophogona</i> (IR = 2)	<i>E. lophogona</i>
	<i>E. annamarieae</i>
<i>E. milii</i> var. <i>longifolia</i> (IR = 2)	<i>E. milii</i> var. <i>longifolia</i>
	<i>E. milii</i> var. <i>roseana</i>
<i>E. pedilanthoides</i> (IR = 2)	<i>E. pedilanthoides</i>
	<i>E. ankazobensis</i>
<i>E. sakarahaensis</i> (IR = 2)	<i>E. sakarahaensis</i>
	<i>E. neobosseri</i>
<i>E. tardieuana</i> (IR = 2)	<i>E. tardieuana</i>
	<i>E. milii</i> var. <i>tenuispina</i>

Tableau VI.1. Tableau indiquant les feuilles de l'arbre réduit utilisé pour les analyses de taux de diversification qui présentent un indice de richesse (IR) supérieur à 1. Les taxa qui sont pris en compte par chacune de ces feuilles de l'arbre sont indiqués dans la colonne de droite.

Les résultats obtenus avec toutes les méthodes statistiques présentées ci-dessus sont comparés (Tableau VI.3.) et discutés ci-dessous. La courbe « semi-logarithmic LTT » est présentée (Figure VI.2.) et est graphiquement comparée à 1000 courbes « LTT » simulées sous un modèle de Yule (le taux de spéciation constant utilisé est celui obtenu précédemment lors du test BLD). Le résultat de l'algorithme MEDUSA est représenté graphiquement sur la Figure VI.2.

3. Codage des données morphologiques

Sur l'ensemble des caractères morphologiques partagés par les espèces du clade GDD, nous avons sélectionné un jeu de 6 traits morphologiques pour notre étude (Tableau VI.2., voir aussi ci-dessous). Deux de ces caractères semblent directement en relation avec la capacité des euphorbes malgaches à stocker l'eau (succulence) et sont donc *a priori* liés à l'écologie des espèces. Les quatre autres caractères sélectionnés correspondent à des traits morphologiques particulièrement polymorphes au sein du clade GDD (port général des espèces, forme et organisation des organes stipulaires, caractères inflorescentiels). Ces derniers caractères présentent une importance tant pour la biologie et la physiologie des espèces que pour la systématique du clade GDD.

Traits de vies codés	États de caractères
1 - Succulence des feuilles	(0) - Feuilles peu ou pas succulentes (1) - Feuilles rigides, « semi-succulentes » (2) - Feuilles fortement succulentes
2 - Succulence du système racinaire	(0) - Aucun renflement tubéreux (1) - Un ou plusieurs renflements tubéreux
3 - Type de forme de vie	(0) - Espèces géophytes (1) - Espèces chamaephytes naines (2) - Espèces monocauls "cactiformes" (3) - Espèces buissonnantes (4) - Espèces arborescentes
4 - Morphologie générale des stipules	(0) - Stipules glandulaires non-développées (1) - Stipules en peignes glandulaires développés (2) - Stipules en épines souples de petite taille (3) - Stipules en épines rigides souvent de grande taille
5 - Développement des cyathophylles	(0) - Cyathophylles peu développées (1) - Cyathophylles développées
6 - Étalement des cyathophylles	(0) - Cyathophylles étalées (1) - Cyathophylles dressées et enveloppant la coupe

Tableau VI.2. Tableau récapitulatif des six traits de vie codés. Les états de caractères associés sont indiqués dans la colonne de droite.

Le codage de ces six traits de vie a mobilisé l'ensemble des données taxonomiques dont nous disposons et a été effectué à l'aide du logiciel Xper2. Pour une discussion détaillée de l'acquisition de ces données et du codage des caractères, voir le Chapitre 2. Nous donnons ci-dessous le détail des 6 caractères morphologiques impliqués dans les analyses (avec le codage des états de caractère utilisé).

Caractère 1 : Succulence des feuilles : (0) Feuilles peu ou pas succulentes, (1) Feuilles rigides, « semi-succulentes », (2) Feuilles fortement succulentes.

Ce trait morphologique correspond à la capacité de stockage de l'eau dans les tissus des feuilles (Eggl & Nyffeler 2009). Il s'agit donc d'un caractère *a priori* directement en relation avec les conditions de vie de la plante, notamment en ce qui concerne les facteurs climatiques et les paramètres édaphiques liés à la disponibilité d'eau (i.e. substrat). La définition et le

codage des différents états du caractère sont de nature qualitative, basés sur la vue et sur le toucher. Nous nous sommes concentrés sur l'épaisseur relative du limbe et des nervures des feuilles. Un limbe fin, souple et qui présente des nervures secondaires visibles (soient colorées, soient proéminentes) caractérise des feuilles faiblement succulentes ou non succulentes (0). Certaines espèces présentant des feuilles aux limbes rigides et légèrement épais qui sont faciles à sectionner ; les nervures sont le plus souvent peu marquées. Nous avons classé ces espèces dans un groupe caractérisé par des feuilles rigides (1). Les feuilles caractérisées par un limbe très épais et rigide (qu'il est impossible de plier sans sectionner), ainsi que par des nervures secondaires invisibles à l'œil nu ont été considérées comme fortement succulentes (2). Les espèces de la section *Deuterocalli*, *E. alluaudii* et *E. cedrorum*, présentent des feuilles de petite taille et en forme d'écailles qui sont rapidement caduques. Des observations fines ont montré que ces feuilles sont aussi larges qu'épaisses et qu'elles présentent un limbe aux surfaces bombées et aux marges épaisses. Nous avons donc considéré que les feuilles de ces espèces, bien que de très petite taille et fugaces, sont fortement succulentes.

Caractère 2 : Le système racinaire : (0) Ne présente pas de renflement tubéreux, (1) Présente un (ou des) renflement(s) tubéreux.

Comme pour le caractère précédent, il s'agit d'un caractère relatif à la capacité de stockage de l'eau dans la plante (Pate & Dixon 1981, Eggi & Nyffeler 2009, Hearn 2009a,b). Au regard des données que nous avons collectées, il n'était pas envisageable de différencier les formes de racines tubéreuses (racine pivotante renflée, racine stolonifère, racine napiforme) et de qualifier ou quantifier leur importance. Nous nous sommes donc limités à coder la présence ou l'absence de renflements du système racinaire. Ce renflement se situe toujours sous le collet et n'est jamais aérien (à l'exception des plantes cultivées ou croissant dans les environnements sujets au ravinement). Pour *Euphorbia martinae*, *E. mangelsdorfii*, *E. paulianii*, *E. ambarivatoensis*, *E. ankaranae* et *E. tardieuana* nous ne disposons d'aucune donnée publiée ou en collection qui nous renseigne sur la nature du système racinaire. À l'aide des observations que nous avons réalisées in-situ ainsi qu'à l'aide de l'expertise fournie par des spécialistes des euphorbes et de la végétation malgache (e.g. T. Haevermans, M. Bardot-Vaucoulon, L. Allorge), nous avons pu compléter les informations manquantes.

Caractère 3 : On peut séparer les formes de vie en cinq classes : (0) Espèces géophytes, présentant un important caudex souterrain et dont les bourgeons terminaux se situent juste sous la surface du sol. En période de floraison, seules les feuilles et les fleurs sortent du sol, la très courte tige qui les porte étant souterraine. (1) Espèces chamaephytes naines, qui

présentent un caudex souterrain. Le système aérien, prostré, est caractérisé par des courtes tiges monocaules qui ne dépassent pas 20 cm (jusqu'à 60 cm pour *Euphorbia waringiae*). (2) Espèces monocaules ou oligoblastiques³¹, « cactiformes », aux racines fluettes, qui ne dépassent généralement pas 1 m de hauteur de façon exceptionnelle jusqu'à 2 m de hauteur pour *E. perrieri* (N. Rebmann & T. Haevermans comm. pers.). (3) Espèces buissonnantes qui ne présentent pas de vrais troncs mais de nombreuses ramifications basales. (4) Espèces arborescentes possédant un vrai tronc.

Les cinq formes de vie proposées ci-dessus pour le groupe GDD correspondent à des concepts basés sur le port général de la plante ainsi que sur l'architecture et la taille de ses ramifications éventuelles. Bien que ces classes ne soit pas uniquement basées sur les modèles d'architecture développés par Hallé & Oldeman (1970), la deuxième classe (espèces monocaules et oligoblastiques) ne compte que des espèces présentant le modèle d'architecture de Corner.

Caractère 4 : Le clade GDD présente au moins 4 types de formations stipulaires : (0) Des stipules non-développées, en forme de glandes de très petite taille, qui peuvent éventuellement former des amas qui entourent l'insertion foliaire (*Euphorbia alluaudii* et *E. cedrorum*). (1) Des stipules glandulaires soudées les unes aux autres et disposées en crête sur la tige, ce qui conduit à la formation de « peignes glandulaires ». (2) Des stipules de taille plus importante qui forment des épines souples qui ne piquent pas. (3) Des stipules de grande taille, sous la forme d'épines rigides et piquantes.

Chez certaines espèces, les épines peuvent être ramifiées et disposés en crêtes (e.g. *Euphorbia viguieri*, *E. neohumbertii*, *E. perrieri*), et portées par des mamelons.

Caractère 5 : Les cyathophylles : (0) Sont peu développées et ne dépassent pas la coupe du cyathium, (1) Sont développées et dépassent en taille la coupe du cyathium.

Les cyathophylles, organes particulièrement variables, diffèrent d'une espèce à l'autre de part leur forme générale, leur couleur, la forme de leur apex ou leur mode d'insertion. Étant donné que ces données ne sont pas disponibles pour tout notre échantillonnage, nous avons choisi de renseigner un caractère qui a trait à la disposition relative des cyathophylles par rapport à la coupe du cyathium

Caractère 6 : Les cyathophylles : (0) Sont étalées de part et d'autre de la coupe du cyathium, (1) Enveloppent la coupe du cyathium en formant un tube qui la dissimule (inflorescences analogues à celles rencontrées pour les espèces d'*Euphorbia* sect. *Pedilanthus*).

³¹ C'est-à-dire fide Mangenot (1969) «... qui se ramifient, plus ou moins tardivement, certains faiblement (oligoblastie)... ».

4. Reconstruction de l'histoire évolutive des traits morphologiques

L'estimation des états ancestraux des six caractères morphologiques codés a été effectuée à l'aide de la fonction « ace » du package APE 3.0-5. La vraisemblance de chaque état de caractère est estimée pour chacun des nœuds internes de la topologie suivant le principe de maximum de vraisemblance (Pagel 1994). Les approches de maximum de vraisemblance permettent d'estimer, pour un caractère donné, les probabilités de tous les états de caractère à chaque nœud de l'arbre. Contrairement aux traditionnelles méthodes de parcimonie basées sur une minimisation des transitions entre états, cette procédure présente l'avantage d'associer une mesure d'incertitude à chaque reconstruction d'état de caractère. Au final, pour les données et les paramètres fournis, le scénario évolutif inféré ne sera pas forcément le plus parcimonieux mais le plus vraisemblable (Cunningham 1999).

Les reconstructions en analyses de maximum de vraisemblances sont effectuées suivant une matrice des taux de transitions entre états. Ainsi la vraisemblance estimée pour chaque état de caractère à chacun nœud de l'arbre dépend des taux de transitions entre états qui sont fournis à l'algorithme. De façon évidente, l'estimation des vraisemblances est fonction des données phylogénétiques intrinsèques telles que la distribution des états de caractères aux feuilles de la topologie ou les longueurs des branches internodales (Cunningham et al. 1998).

La fonction « ace » implémente trois types de matrices de transition entre états. Le premier modèle considère que tous les taux de transitions entre états sont les mêmes : c'est le modèle ER (« equal rates ») à un seul paramètre. Les deux autres modèles font varier les taux de transitions entre états. Dans un cas, tous les taux de transitions entre états sont différents (modèle ARD, i.e. « all-rates-different ») et le nombre de paramètre estimé est identique au nombre de transitions possibles. Le dernier modèle enfin dérive des deux autres en suggérant que la transition entre deux états de caractères se déroule suivant le même taux, quel que soit le sens de la transition (modèle SYM, i.e. « symmetric »). Pour le modèle SYM, le nombre de paramètres estimés est ainsi équivalent à la moitié du nombre de transitions possibles et les modèles SYM et ER sont donc identiques si le caractère étudié est binaire (i.e. si il présente deux états et donc deux transitions possibles).

Afin d'estimer lequel des trois modèles de transitions entre états est adapté à nos données, nous avons estimé la vraisemblance de chacun des modèles pour chaque caractère et nous les avons comparé sous R au moyen d'un test du rapport des vraisemblances (« Likelihood-ratio test »). Ce rapport permet de juger si les données sont plus vraisemblables avec un modèle fortement ou faiblement paramétré. Si la valeur p est inférieure à 0,05, il est

vraisemblable de rejeter le modèle le plus général (i.e. le modèle ER) pour un modèle plus spécialisé (i.e. les modèles SYM ou ARD). Dans le cas inverse ($p > 0,05$), le modèle le plus simple ne peut pas être exclu et est conservé.

Nous avons ensuite procédé aux reconstructions des états de caractères ancestraux qui ont été figurés sur la topologie BEAST réduite à l'aide du logiciel R (Figure VI.3, 4, 5, 6, 7, 8.).

III. Résultats

1. *Estimation des tempi de diversification*

La comparaison du graphique « LTT » issu des données expérimentales (i.e. phylogénie réduite du clade GDD) avec les 1000 graphiques « LTT » provenant des modélisations statistiques (Figure VI.2.) permet de caractériser qualitativement la variabilité du taux de diversification. Pour le clade GDD le taux d'accumulation des lignées semble grossièrement constant au cours du temps jusqu'à $\sim -4,5$ Ma. Entre cette date et l'époque actuelle on observe que le tempo de diversification du clade GDD supplante ceux obtenus avec les 1000 topologies simulées (Figure VI.2.). Vers ~ -3 Ma, le taux de diversification chute pour atteindre un plateau typique des études réalisées dans le domaine interspécifique (Harvey et al. 1994) : dans les périodes très récentes, il est logique d'observer peu d'évènements de spéciation.

Il est néanmoins difficile d'estimer si ce patron de diversification correspond à une réelle augmentation récente du taux de diversification. En effet, il pourrait tout aussi bien être expliqué par des taux d'extinction importants qui entraîneraient une surreprésentation des lignées récentes (phénomène dit du « pull of the present ») (Nee et al. 1994, Pybus & Harvey 2000, Rabosky 2006a). Si de nombreuses études ont tenté avec succès de modéliser la décroissance des taux de diversification au cours du temps (Rabosky et al. 2007, Rabosky & Lovette 2008), l'augmentation des taux de diversification est donc beaucoup plus difficile à interpréter. Les méthodes BLD et MEDUSA fournissent des modèles de diversification qui estiment conjointement les taux de spéciation et d'extinction pour une topologie datée donnée. Elles peuvent donc potentiellement distinguer une augmentation des taux de spéciation d'une augmentation des taux d'extinction (Rabosky 2006b, Alfaro et al. 2009a). Malheureusement

ces méthodes présentent des limitations d'ordre statistique³² et de fortes hypothèses *a priori*, la plus problématique étant sans doute l'absence de variation des taux de diversification entre lignées ou à l'intérieur des lignées dans le temps (Rabosky 2010, Antonelli & Sanmartín 2011). Plusieurs études récentes ont montré que ces postulats peuvent fortement biaiser les estimations des taux d'extinction quand elles sont basées sur des phylogénies qui ne prennent en compte que des taxa actuels (e.g. Bokma 2009, Rabosky 2010). Conscients de ces limites, nous avons testé et discuté ces méthodes en prenant soin de ne pas considérer les résultats obtenus comme indubitables.

Du point de vue de la variabilité générale du taux de diversification pour le clade GDD, le test γ rejette de façon significative un taux de diversification constant ($\gamma = -4,281842$; $p < 0,05$) (Tableau VI.3.).

Le test BLD permet de sélectionner les modèles à taux de diversification constants et variables les plus adaptés aux données et de les comparer. Cette méthode suggère que pour modéliser l'histoire évolutive du clade GDD, le modèle constant le plus adéquat correspond au modèle de Yule « pure-birth » qui présente un unique taux de spéciation pour l'ensemble de la topologie et un taux d'extinction nul ($b = 0,2048356$; $AIC_{RC} = -95,44953$) (Tableau VI.3.). Le modèle variable sélectionné est le modèle à deux taux de diversification (« Yule-2-rates model ») ($AIC_{RV} = -116,5286$). Il est caractérisé par un taux de spéciation constant pour toute la topologie ($b_1 = 0,3434611$) jusqu'à -2,96 Ma, date à laquelle le taux de spéciation

Tableau VI.3. Résultats des analyses de taux de diversification : calcul de l'indice γ et de sa significativité (p) ; test « BLD » (Modèle « Pure birth », modèle « Birth-death », modèle « DDX », modèle « DDL », modèle « Yule-2-rate ») et calcul du ΔAIC_{RC} et de sa significativité (p) ; test MEDUSA.

Modèles de macroévolution	Gamma valeur p	Modèle "Pure birth"	Modèle "Birth- death"	Modèle "DDX"	Modèle "DDL "	Modèle "Yule-2-rate"	ΔAIC_{RC} valeur p		MEDUSA
							"Background"	"Shift"	
Clade GDD	$\gamma = -4,281842$ $p = 9,267615e-06$	LH = 48.72477 AIC = -95.44953 r1 = 0.2048356	LH = 48.72477 AIC = -93.44953 r1 = 0.2048356 a = 0	LH = 53.50092 AIC = -103.0018 r1 = 0.8959823 x = 0.423942	LH = 59.14895 AIC = -114.2979 r1 = 0.4878651 k = 78.63215	LH = 61.26428 AIC = -116.5286 r1 = 0.3434611 r2 = 0.09365637 st = 2.963929	$\Delta AIC_{RC} =$ 21.07903 p < 0.05	LH = -163.0128 b = 2.047250e-01 d = 4.035342e-08	LH = -14.36612 b = 6.784359e-01 d = 2.342246e-07

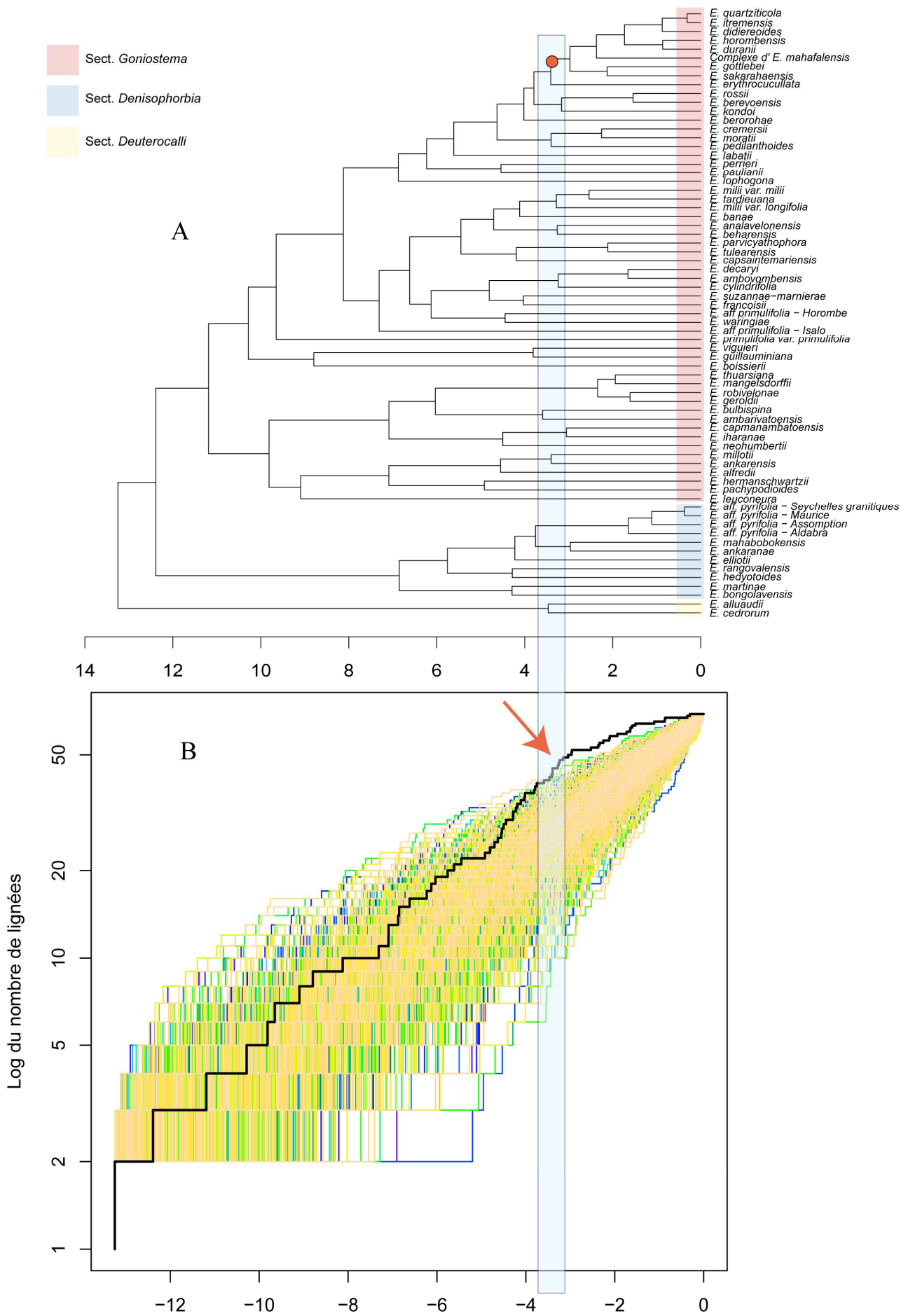
³² La puissance des tests statistiques dépend de l'importance de la variation des taux de diversification et du poids des taux d'extinction : plus le changement dans les taux de diversification est important et plus la part d'extinction est faible, plus le test est puissant (Antonelli & Sanmartín 2011).

est divisé environ par quatre ($b_2 = 0,09365637$) (Tableau VI.3.). Le modèle à taux variables est plus adapté aux données que le modèle à taux constants ($\Delta AIC_{RC} = 21,07903$) et le test statistique basé sur les ΔAIC_{RC} simulés a montré que cette différence est significative ($\Delta AIC_{RC} = 21,07903$; $p < 0.05$) (Tableau VI.3.). Ainsi, la méthode BLD soutient que le scénario évolutif le plus adapté aux données correspond à une décroissance récente du taux de diversification des lignées avec un taux de spéciation qui est environ quatre fois plus faible pour les trois derniers millions d'années. Ce résultat reste cohérent avec la courbe « LTT » du clade GDD qui présente un plateau aux alentours de -3 Ma. La part d'extinction des lignées estimée pour le modèle « Birth-death » tend vers zéro ($a = 0$).

Grâce à la méthode de « stepwise AIC », l'algorithme MEDUSA identifie une augmentation du taux de diversification au sein de la jeune lignée qui regroupe les espèces des **clades d'*Euphorbia horombensis*, d'*E. mahafalensis* et d'*E. genoudiana***. Le taux de diversification général pour le clade GDD est très similaire à celui obtenu avec la méthode BLD ($b = 0,2047250$; $d \sim 4e-08$) (Tableau VI.3.). Ce taux de diversification est multiplié par ~ 3 pour la lignée qui regroupe les trois clades suscités ($b = 0,6784359$; $d \sim 2e-07$) (Tableau VI.3.). Comme pour les tests BLD, la méthode MEDUSA infère des taux d'extinction négligeables. Il est intéressant de noter que le nœud basal de cette lignée correspond plus ou moins à la période à laquelle on observe une augmentation anormalement élevée de l'accumulation des lignées pour le clade GDD, i.e. vers ~ -4 Ma (voir Figure VI.2.).

Les résultats obtenus avec les algorithmes de modélisation permettent de confirmer les tendances observées sur les graphiques « LTT » de la Figure VI.2.. Le test BLD n'identifie pas d'augmentation récente généralisée du taux de diversification au sein du clade GDD et donne une estimation négligeable du taux d'extinction. La méthode MEDUSA enfin, détecte une forte accélération du taux de diversification dans une lignée récente du **clade V**.

Dans la limite des méthodes statistiques utilisées ici, ces conclusions permettraient de relativiser le problème posé par le phénomène de « pull of the present ». Néanmoins, pour des phylogénies inférées au niveau de l'espèce, l'inclinaison des taux d'extinction à tendre vers zéro est un fait connu et documenté mais largement incompris (Nee 2006, Bokma 2009, Purvis 2008, Rabosky 2010). En effet, l'étude du registre fossile suggère que la part d'extinction au cours de l'histoire de la vie a vraisemblablement été importante (Gilinsky 1994, Alroy 2008), ce qui amène à considérer les résultats obtenus avec précaution.



← **Figure VI.2. A.** Résultat du test statistique MEDUSA : le cercle rouge figuré sur une branche de l'arbre phylogénétique réduit (voir Figure VI.1.) représente l'emplacement de l'évènement de changement dans le taux de diversification. Toutes les lignées dérivant de cette branche disposent d'un taux de diversification environ 3 fois supérieur au taux de diversification des autres lignées de l'arbre. **B.** Graphes « LTT » obtenus avec les données expérimentales, i.e. la phylogénie réduite du clade GDD (courbe en *gras* sur le graphe), ainsi qu'avec les 1000 phylogénies simulées sous un modèle de Yule (« pure-birth ») avec un taux de spéciation constant ($b = 0,2048356$) (1000 courbes en *couleur*). La flèche rouge indique une portion du graphique où la pente de la courbe d'accumulation des lignées au cours du temps est visiblement supérieure pour les données expérimentales. Pour **A** et **B**, l'axe des abscisses correspond à l'échelle chronologique ; pour **B** il correspond au log du nombre de lignées accumulées à un temps t .

2. Reconstruction de l'histoire évolutive des traits morphologiques

Le test de rapport des vraisemblances nous a amené à conserver le modèle ER pour les caractères 1, 3 et 6, le modèle ARD pour les caractères 2 et 5 ($p < 0,05$) et le modèle SYM pour le caractère 4 ($p < 0,05$) (Tableau VI.4.).

Compte tenu de l'importante diversité morphologique de espèces d'*Euphorbia* section *Goniostema* par rapport aux taxa des deux autres sections, la discussion portera majoritairement sur la reconstruction des états de caractère ancestraux au sein de cette section.

Traits de vies codés	nb états de caractères	ER (equal rates)	ARD (all-rates-different)	SYM (symmetric)
1 - Succulence des feuilles	3	LogL = -41.605	LogL = -37.69362 p = 0.1662788	LogL = -40.2856 p = 0.2672968
2 - Succulence du système racinaire	2	LogL = -35.17523	LogL = -32.4759 p = 0.02015221	–
3 - Type de forme de vie	5	LogL = -65.24477	LogL = -58.83942 pp = 0.8481183	LogL = -60.63878 pp = 0.4179413
4 - Morphologie générale des stipules	4	LogL = -50.87249	LogL = -41.9945 pp = 0.08741817	LogL = -44.42666 pp = 0.02441538
5 - Développement des cyathophylles	2	LogL = -16.06172	LogL = -13.38841 pp = 0.02076249	–
6 - Étalement des cyathophylles	2	LogL = -29.87611	LogL = -29.59141 pp = 0.4504967	–

Tableau VI.4. Résultats des tests visant à comparer la vraisemblance les différents modèles de transition entre états de caractères. Pour chaque caractère, les modèles qui présentent une vraisemblance significativement plus élevée ($p > 0,05$) sont sélectionnés (ici figurés en gras et surlignés en gris).

Caractère 1 - Succulence des feuilles (Figure VI.3.)

La succulence des feuilles est faible pour presque tous les nœuds profonds de la topologie (i.e. les nœuds à la base de la section *Denisophorbia*, de la section *Goniostema*, du **clade d'E. boissieri** et du **clade V**) ($p > 0,9$). Pour le **clade d'E. thuarsiana**, l'état de caractère ancestral inféré correspond à des feuilles rigides moyennement succulentes ($p > 0,9$). Aucune des espèces de ce clade ne présentent des feuilles succulentes et l'on observe deux évènements de

réversion vers une succulence faible (**clade d'*E. bulbispina*** et **d'*E. ambarivatoensis*** d'une part, *E. robivelonae* d'autre part). Ce scénario évolutif suggère trois acquisitions indépendantes de feuilles moyennement succulentes : une pour la section *Denisophorbia* (*E. elliotii*), une deuxième pour le **clade d'*E. leuconeura*** (*E. millotii*) et une troisième pour le **clade d'*E. milii*** (*E. tardieuana*). L'état ancestral reconstruit pour le nœud basal du **clade IV** correspond à une succulence importante mais la vraisemblance de cette inférence est moyenne ($p > 0,7$) ; en revanche, pour le **clade d'*E. decaryi*** cette vraisemblance est importante ($p > 0,99$). De la même manière que pour l'état précédent, on observe des phénomènes de réversion pour les espèces buissonnantes du **clade d'*E. milii*** (*E. milii*, *E. banae*, *E. analavelonensis*) et pour *E. aff. primulifolia* — Horombe au sein du **clade d'*E. waringiae***. La reconstruction de l'état ancestral pour le **clade d'*E. millii*** reste équivoque.

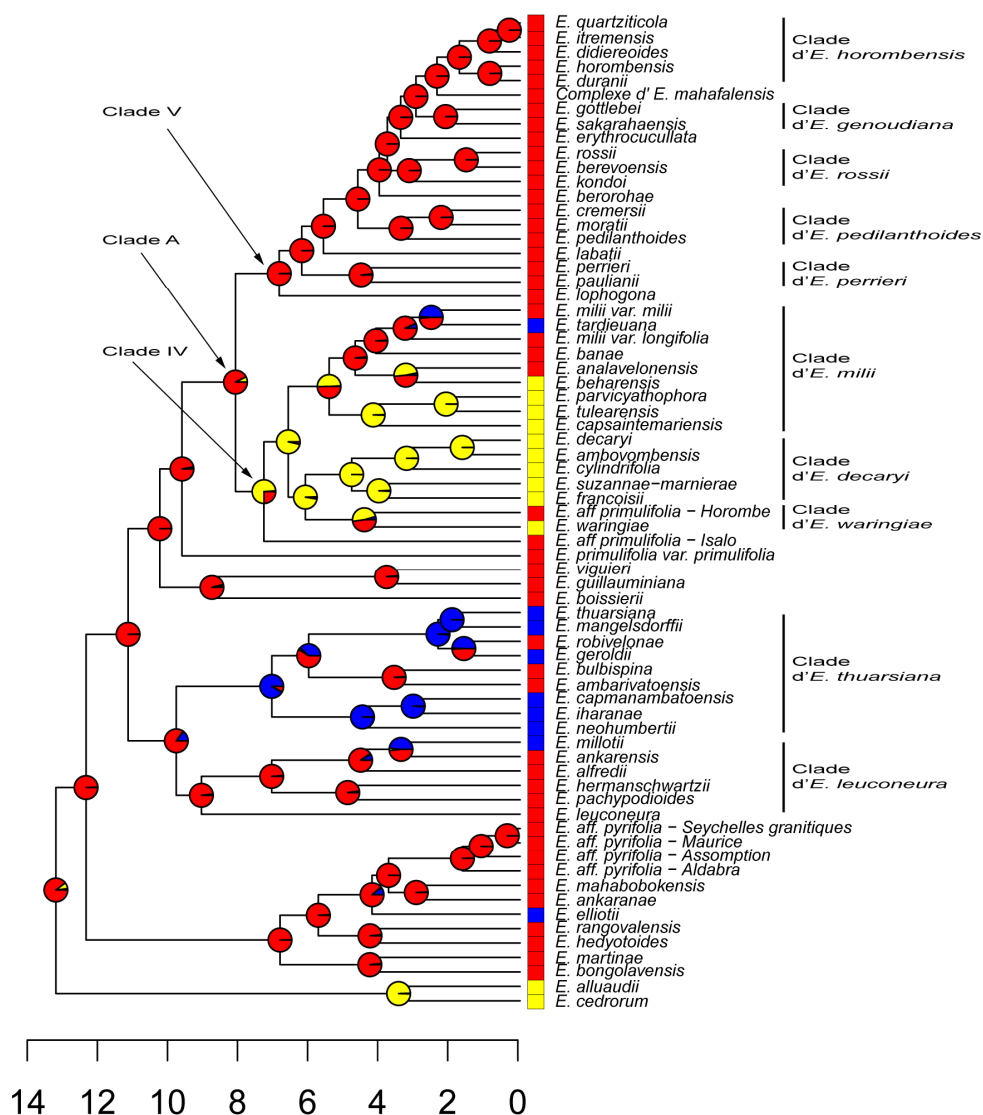


Figure VI.3. Reconstitution en ML des caractères ancestraux pour la succulence des feuilles (fonction « ace », modèle ER). Rouge : (0) - Feuilles peu ou pas succulentes ; Bleu : (1) - Feuilles rigides, « semi-succulentes » ; Jaune : (2) - Feuilles fortement succulentes.

Caractère 2 – Succulence du système racinaire (Figure VI.4.)

Pour tous les nœuds profonds entre grands clades, l'état ancestral reconstruit correspond à la présence de succulence au niveau du système racinaire ($p > 0.99$). La succulence des racines aurait été perdue à plusieurs reprises au sein de la section *Denisophorbia* et de la section *Goniostema*. Pour la section *Denisophorbia*, on observe trois pertes potentielles au niveau (1) du clade formé par *Euphorbia martinae* et *E. bongolavensis* (2) d'*E. ankaranae* (3) et du clade des taxa non-malgaches apparentés à *E. pyrifolia*. Les événements de pertes seraient plus nombreux pour la section *Goniostema*. On note des pertes pour des clades entiers comme pour le grand clade du Nord qui regroupe les espèces des **clades d'*E. leuconeura*** et **d'*E. thuarsiana*** ($p > 0.99$), pour le **clade d'*E. boissieri*** ($p > 0.8$), pour le clade formé par les taxa apparentés à *E. milii* (*E. tardieuana*, *E. milii* var. *longifolia*) ou pour le **clade d'*E. perrieri***. Les événements de pertes sont aussi réduits à des espèces ou à de petits clades : *E. analavelonensis*, *E. lophogona*, *E. didiereoides* et le clade qui regroupe *E. horombensis* et *E. duranii*.

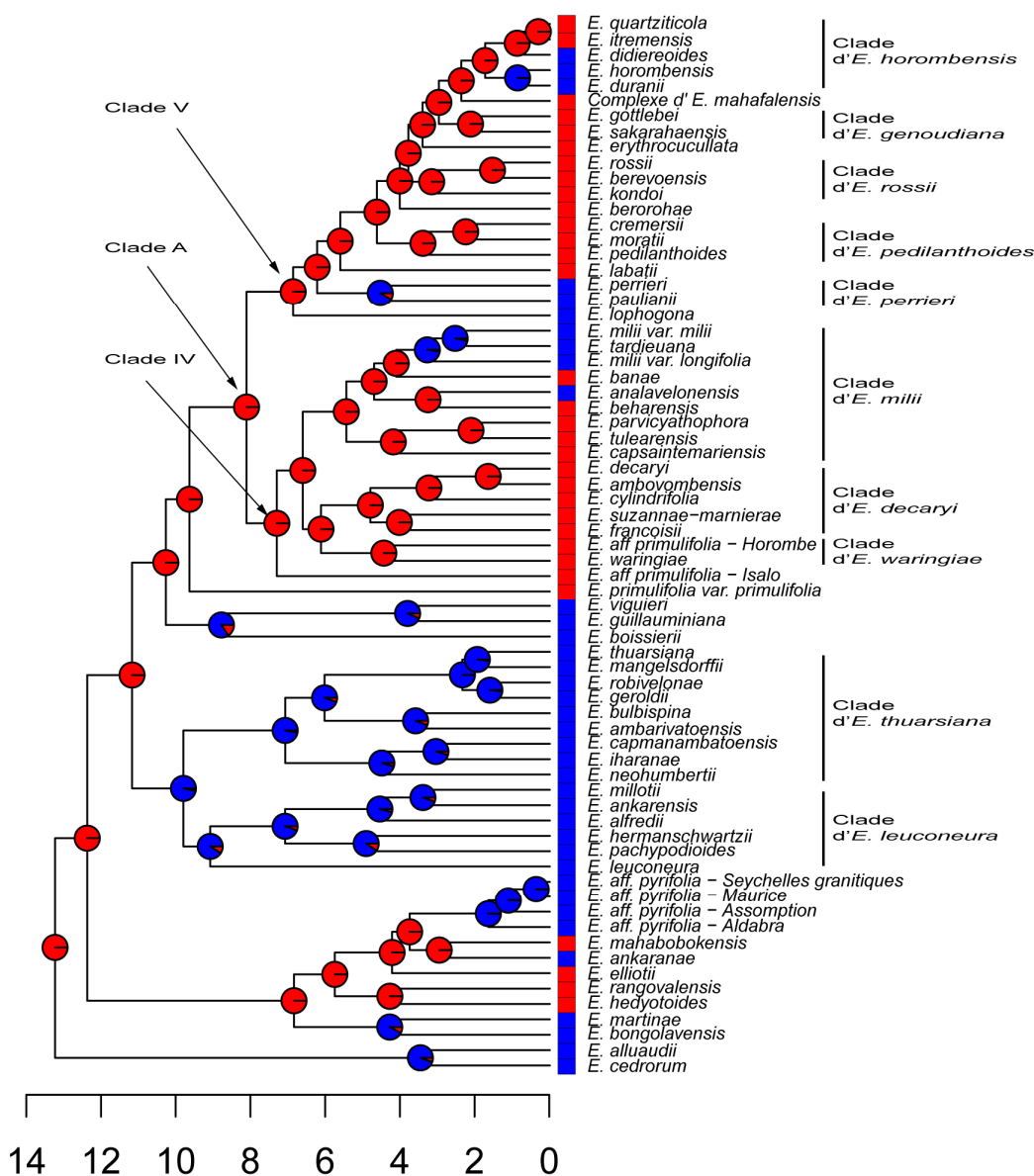


Figure VI.4. Reconstruction en ML des caractères ancestraux pour la succulence du système racinaire (fonction « ace », modèle ARD). **Bleu** : (0) - Aucun renflement tubéreux ; **Rouge** : (1) - Un ou plusieurs renflements tubéreux.

Caractère 3 – Type de forme de vie (Figure VI.5.)

La reconstruction des états ancestraux suggère que la forme de vie ancestrale pour la section *Goniostema* correspondrait à un habitus de type « cactiforme » (espèces monocaules à forte succulence des tiges). Cet habitus aurait évolué vers un port buissonnant pour le **clade d'*Euphorbia thuarsiana*** ($p \sim 0.67$) et vers un port nain pour le **clade A** ($pp \sim 0.69$) mais ces reconstructions restent statistiquement moyennement soutenues. Le port arborescent n'est présent que pour *E. thuarsiana* et aurait découlé du port buissonnant. Pour le **clade IV**, on observe une transition entre le port nain et les formes buissonnantes à la base du **clade d'*E. milii*** ($p \sim 0.64$) avec un réversion vers des formes naines pour le clade regroupant *E.*

capsaintemariensis, *E. parvicyathophora* et *E. tulearensis*. La forme de vie ancestrale inférée pour le **clade V** correspond au port de type « cactée ». Les reconstructions des états ancestraux pour les nœuds profonds de la topologie du **clade V** sont ambiguës mais il est vraisemblable que le port buissonnant soit apparu dans ce groupe au niveau du sous-clade enraciné par le **clade d'*E. pedilanthoides***. Le port géophyte strict serait apparu par convergence à la base du **clade A** (*E. primulifolia* var. *primulifolia*) et du **clade IV** (*E. primulifolia* var. *primulifolia*, *E. aff. primulifolia* — Horombe, *E. aff. primulifolia* — Isalo), ainsi que récemment au sein du **clade V** (*E. quartziticola* et *E. itremensis*).

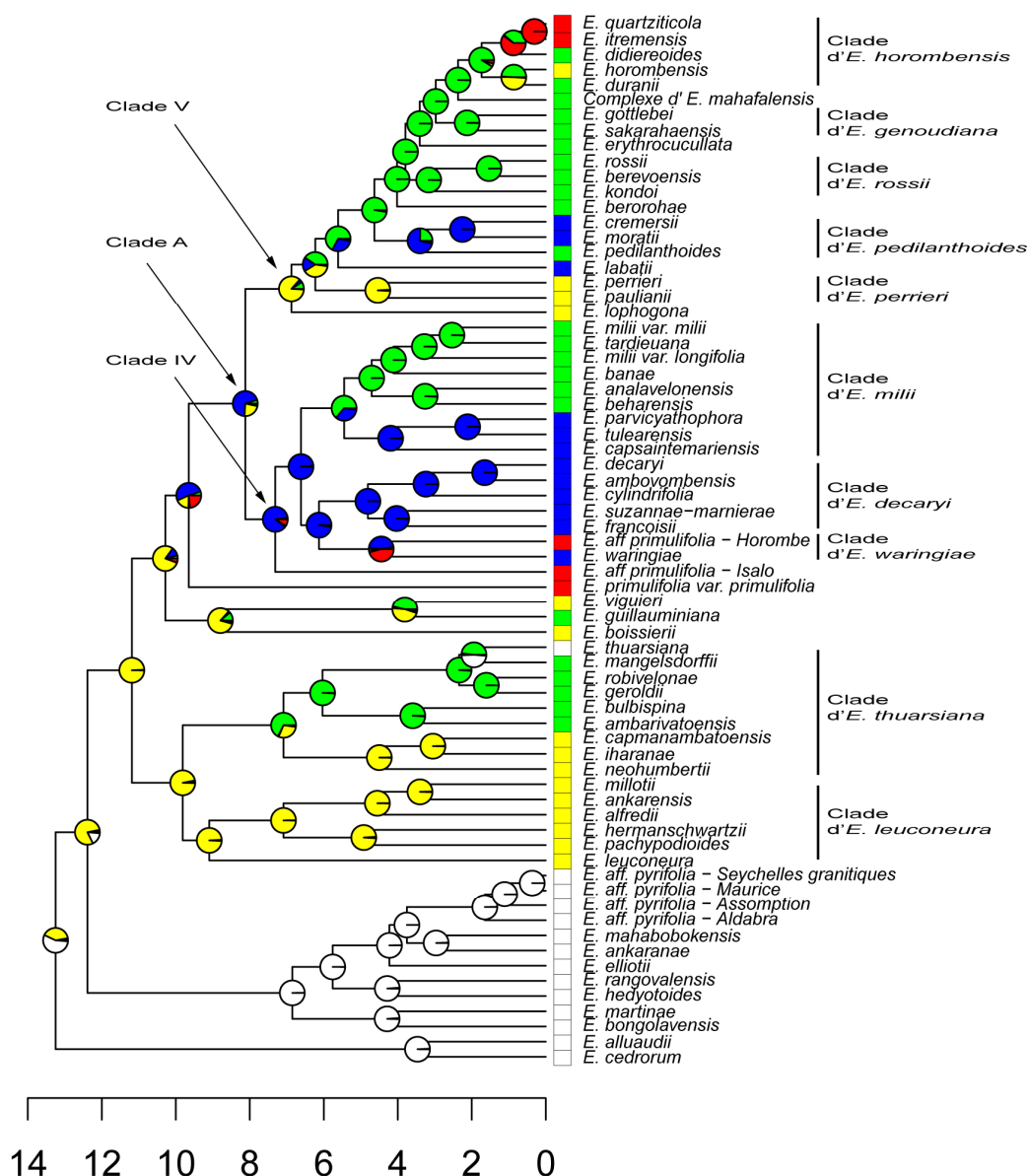


Figure VI.5. Reconstruction en ML des caractères ancestraux pour le type de forme de vie (fonction « ace », modèle ER). **Rouge** : (0) - Espèces géophytes ; **Bleu** : (1) - Espèces chamaephytes naines ; **Jaune** : (2) - Espèces monocaulous "cactiformes" ; **Vert** : (3) - Espèces buissonnantes ; **Blanc** : (4) - Espèces arborescentes.

Caractère 4 – Morphologie générale des stipules (Figure VI.6.)

La morphologie stipulaire des membres d'*Euphorbia* sect. *Goniostema* présente une importante variabilité et les reconstructions ancestrales des nœuds internes profonds restent majoritairement sujets à caution (e.g. les nœuds à la base du clade d'*E. boissieri* ou à la base du **clade A**). La présence d'épines rigides correspondrait à l'état ancestral observé pour la section *Goniostema* ($p > 0.9$). La morphologie des stipules aurait postérieurement évolué vers des peignes glandulaires pour le clade d'*E. leuconeura* ($p > 0.9$), vers des stipules glandulaires de petite taille pour le clade formé par les espèces directement apparentées à *E. thuarsiana* (*E. mangelsdorffii*, *E. geroldii* et *E. robivelonae*) et vers des épines souples pour le **clade IV**. Au sein du **clade V** on observe une transition depuis des épines rigides vers des épines souples pour *E. labatii* et pour deux groupes d'espèces : le **clade d'*E. pedilanthoides*** ($p \sim 0.73$) et le clade formé par *E. didiereoides*, *E. quartziticola* et *E. itremensis* ($p \sim 0.61$). Le scénario évolutif inféré présente en outre de nombreux phénomènes de réversion depuis des épines souples vers des épines rigides (**clade d'*E. milii***, **clade d'*E. pedilanthoides*** et **clade d'*E. horombensis***) et depuis des épines en peignes glandulaires vers des épines rigides (clade formé par *E. pachypodioides* et *E. hermanschwartzii*).

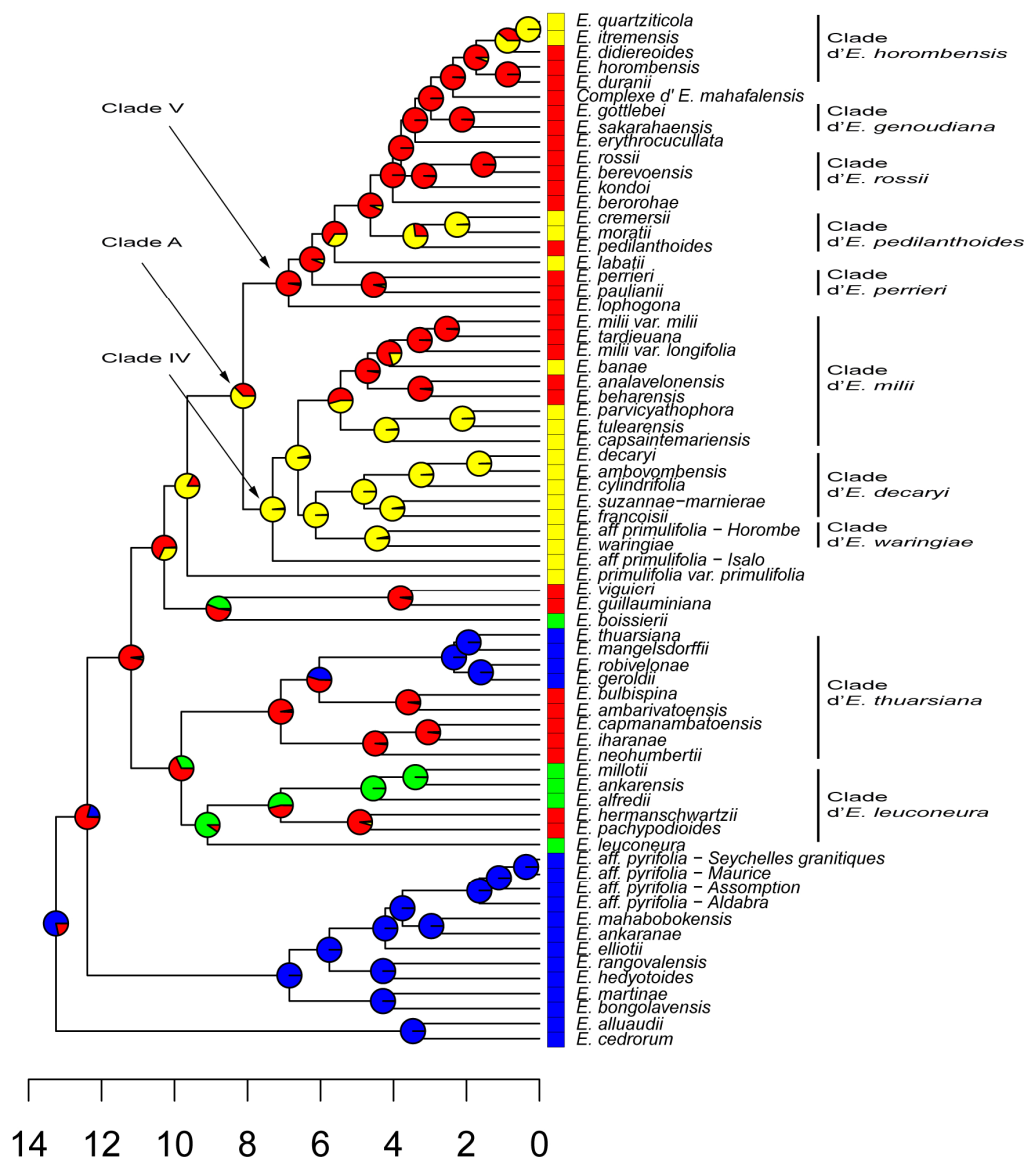
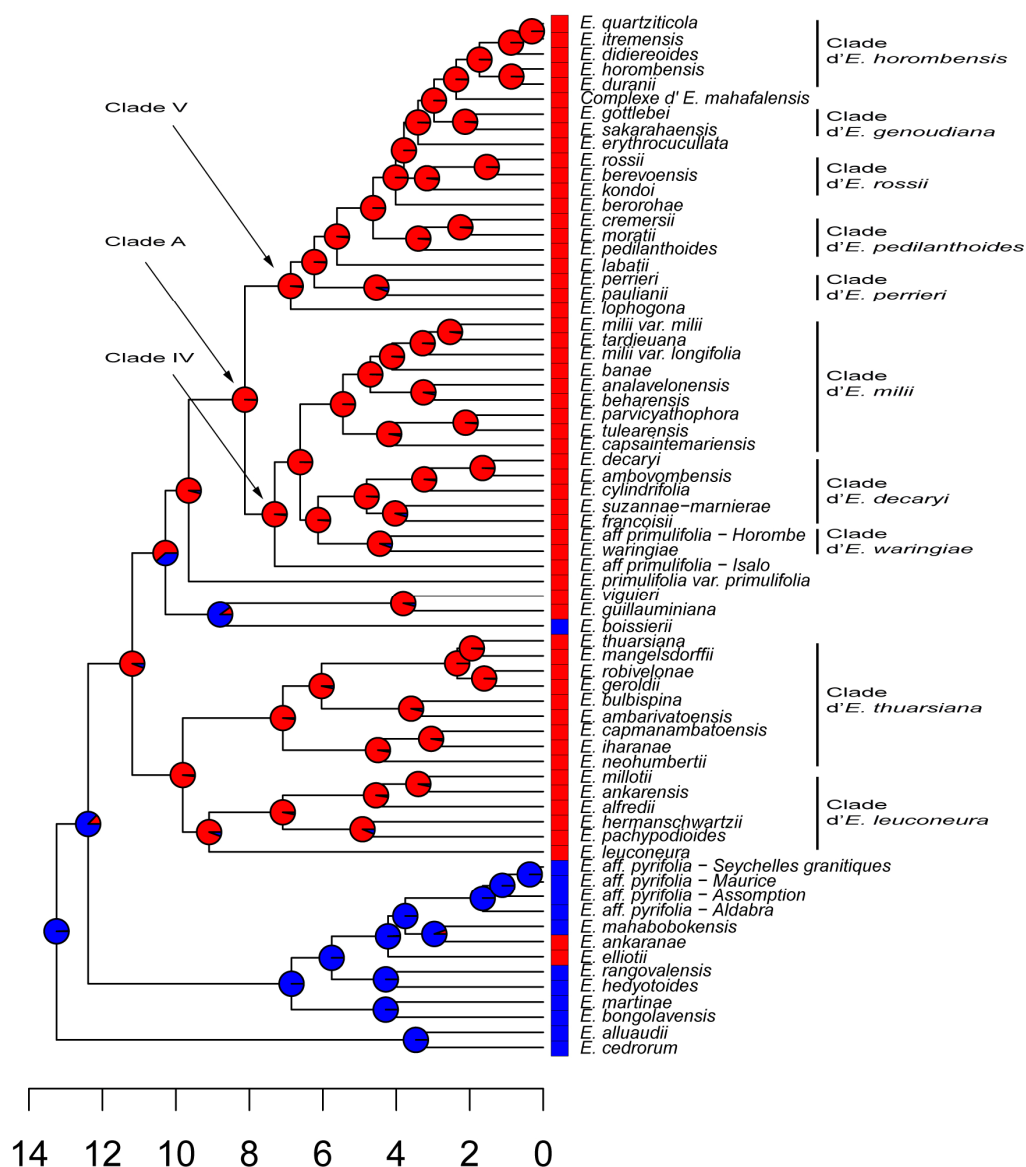


Figure VI.6. Reconstruction en ML des caractères ancestraux pour la morphologie générale des stipules (fonction « ace », modèle SYM). Bleu : (0) - Stipules glandulaires non-développées ; Vert : (1) - Stipules en peignes glandulaires développés ; Jaune : (2) - Stipules en épines souples de petite taille ; Rouge : (3) - Stipules en épines rigides souvent de grande taille.

Caractère 5 – Développement des cyathophylles (Figure VI.7.)

Ce caractère est peu variable et la quasi-totalité des reconstructions ancestrales inférées aux nœuds internes pour les sections *Denisophorbia* et *Goniostema* suggèrent respectivement des cyathophylles de taille réduite et des cyathophylles développées. Ainsi la présence de cyathophylles développées pour *Euphorbia elliotii* et *E. ankaranae* serait due à une convergence évolutive. Seule l'espèce *E. boissieri* présente des cyathophylles réduites pour la section *Goniostema*. L'hypothèse évolutive présentée ici suggère que cette autapomorphie proviendrait d'une transition vers des cyathophylles peu développées à la base du **clade d'E.**

boissieri ($p > 0.9$).et que la présence de cyathophylles développées observées chez *E. viguieri* et *E. guillauminiana* résulterait d'une réversion.



Caractère 6 – Étalement des cyathophylles (Figure VI.8.)

Ce caractère n'est variable qu'au sein de la section *Goniostema* et les taxa qui présentent des cyathophylles qui enveloppent le cyathium ne sont pas tous intimement apparentés. Les reconstructions des caractères ancestraux aux nœuds profonds suggèrent que l'état ancestral correspondrait à des cyathophylles étalées et que l'état de caractère « cyathophylles enveloppantes » serait apparu par convergence, plusieurs fois au sein de la section *Goniostema*. Les reconstructions des états de caractère ancestraux à la base des **clades d'*Euphorbia thuarsiana* et d'*E. leuconeura*** restent ambiguës. Au sein de ces clades, les

cyathophylles étalées auraient évolué vers des cyathophylles enveloppantes au niveau de l'espèce *E. leuconeura* et du clade qui regroupe *E. neohumbertii*, *E. capmanambatoensis* et *E. iharanae*. Ce scénario suggère que l'état ancestral du **clade d'*E. boissieri*** serait des cyathophylles enveloppantes qui auraient été perdues secondairement par *E. boissieri* ($p \sim 0.6$). Au sein du **clade V**, on note des acquisitions indépendantes de cyathophylles enveloppantes pour *E. pedilanthoides*, *E. erythroculata*, *E. didiereoides* et pour les espèces directement apparentées à *E. kondoi* (avec un retour à des cyathophylles étalées pour *E. rossii*). Au sein du **clade V**, les états de caractère ancestraux des nœuds profonds qui regroupent les clades les plus récents (clade d'*E. mahafalensis*, clade d'*E. horombensis*, clade d'*E. genoudiana*, clade d'*E. rossii*) restent pour partie ambigus.

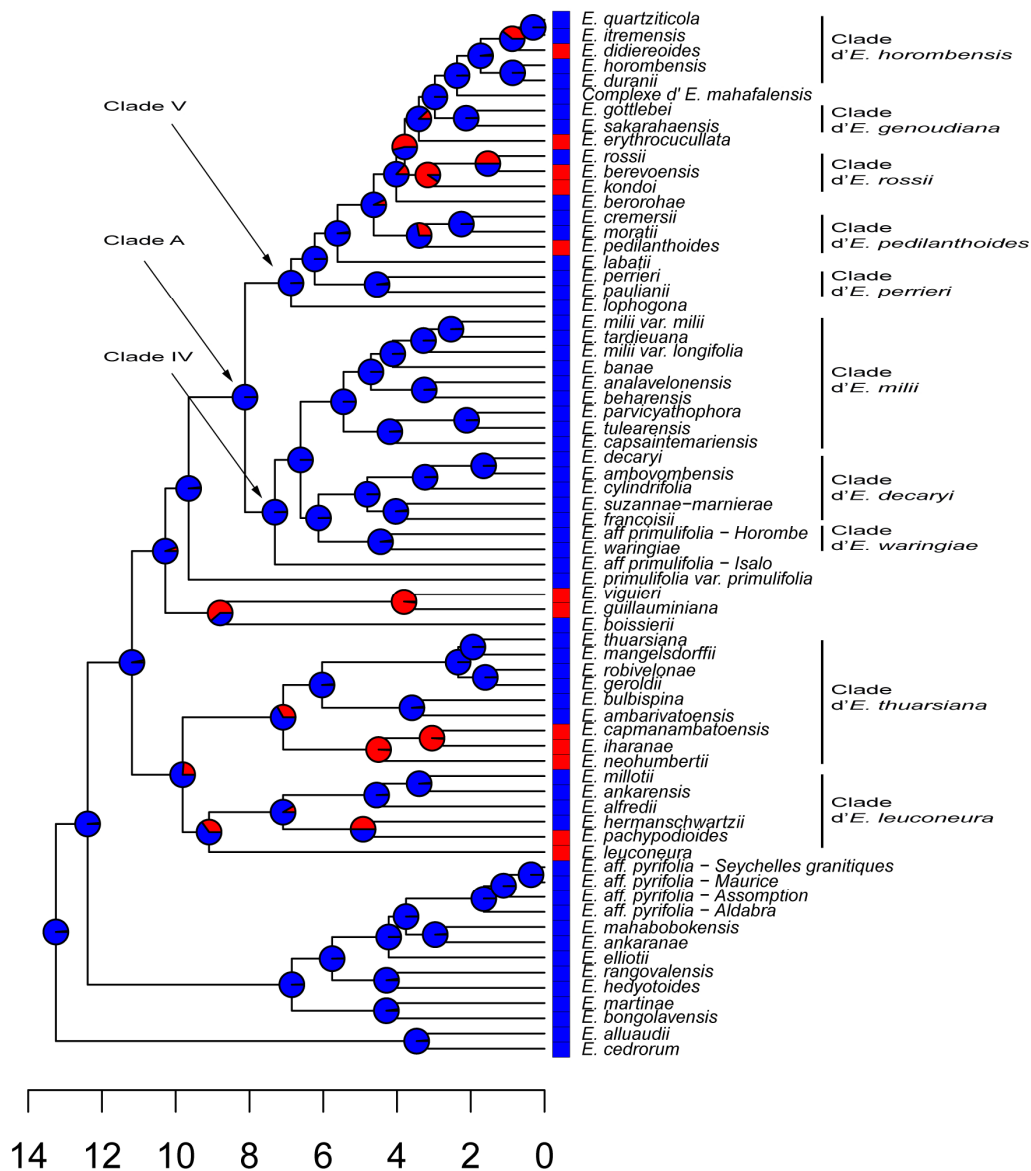


Figure VI.8. Reconstitution en ML des caractères ancestraux pour l'étalement des cyathophylles (fonction « ace », modèle ER). Bleu : (0) - Cyathophylles étalées ; Rouge : (1) - Cyathophylles dressées et enveloppant la coupe.

IV. Discussion

Les avancées récentes dans le domaine de la reconstruction phylogénétique et de l'implémentation de plusieurs modèles d'horloges moléculaires ont ouvert un large champ de perspectives de recherche : les patrons de diversification des espèces peuvent maintenant être explorés dans le temps et dans l'espace (Antonelli & Sanmartín 2011). Depuis quelques années on constate le développement de méthodes qui visent à modéliser les taux de spéciation et d'extinction associés à des phylogénies datées d'espèces actuelles (Rabosky 2006a, Nee et al. 1994). À partir de ces données il est possible d'effectuer des tests statistiques qui peuvent potentiellement détecter des changements dans les taux de diversification au cours du temps (Rabosky 2006b, Rabosky & Lovette 2008, Alfaro et al. 2009a). En étudiant la corrélation entre les vitesses de diversification et les patrons biogéographiques et morphologiques, certains auteurs ont exploré les concepts d'innovation clé et de radiation adaptative (Moore & Donoghue 2007, Alfaro et al. 2009b). Ces méthodes sont néanmoins sujettes à controverse et font l'objet d'intenses débats notamment en vue de déterminer si leurs limitations statistiques ne leur enlèvent pas toute crédibilité (Bokma 2009, Rabosky & Lovette 2009, Rabosky 2010, Antonelli & Sanmartín 2011).

La phylogénie datée du clade GDD a fourni un patron de diversification assez classique avec un taux de diversification relativement constant tout le long des lignées, taux qui a tendance néanmoins à décroître au niveau de l'époque actuelle. L'utilisation de la méthode MEDUSA nous a permis de détecter une augmentation significative du taux de diversification dans une des lignées ayant divergé récemment au sein de la section *Goniostema* (**clades d'*Euphorbia horombensis*, d'*E. mahafalensis* et d'*E. genoudiana***). Cette lignée fait partie du **clade A**, le grand clade hyper-diversifié de la section *Goniostema*, et le résultat du test statistique semble donc à première vue cohérent avec la réalité.

La reconstruction des états de caractère ancestraux aux nœuds permet de proposer des scénarii évolutifs visant à expliquer l'impressionnante variabilité morphologique présentée par les membres de la section *Goniostema*. Les résultats de ces analyses suggèrent que ce groupe se serait diversifié depuis des formes de vie « cactées » à tiges très succulentes et peu ramifiées, vers des formes plus ramifiées à la base, principalement naines (chamaephytes naines) pour le **clade IV** et de plus grande taille (port buissonnant) pour le **clade V**. Les phénomènes de convergence évolutive sont nombreux comme l'apparition de l'habitus géophyte strict dans plusieurs clades non apparentés (e.g. à la base du **clade A** et au sein du **clade d'*Euphorbia horombensis***), l'absence d'un système racinaire développé (e.g. pour

certaines espèces des **clades d'*E. milii* et d'*E. horombensis***) ou encore l'acquisition de cyathophylles qui enveloppent le cyathium.

Au sein de la section *Goniostema*, la divergence des lignées du **clade A** est vraisemblablement accompagnée d'une colonisation des milieux sub-arides du sud de l'île (cf. Chapitre 5) ainsi que d'une importante diversification morphologique. Cependant, contrairement à ce que l'on peut penser *a priori*, face à un tel nombre d'espèces et à une telle variété de formes, la présente étude n'a pas montré d'augmentation statistiquement significative du taux de diversification au cours du temps pour l'ensemble de la section *Goniostema*, ni même pour l'hyper-diversifié **clade A**. Le seul évènement d'augmentation des taux de diversification détecté par l'algorithme MEDUSA, serait en réalité récent (~ 3,5 Ma) et correspondrait à la divergence des lignées apparentées aux **clades d'*Euphorbia horombensis*, d'*E. mahafalensis* et d'*E. genoudiana***. Nous n'avons pas discerné de grands patrons morphologiques ou écologiques qui pourraient être directement en relation avec cet évènement de changement de taux de diversification. Les taxa de ces clades montrent une impressionnante diversité morphologique (plantes géophytes avec *E. quartziticola* et *E. itremensis* ; plantes « cactiformes » avec *E. horombensis* ; plantes buissonnantes avec les taxa du « complexe d'*E. mahafalensis* ») et sont présents dans des milieux particulièrement contraignants au niveau des conditions climatiques : sur les hauts plateaux malgaches (*E. quartziticola*, *E. itremensis*, *E. horombensis*, *E. didiereoides* et *E. duranii*) où l'on observe de fortes amplitudes des températures, et dans le bush sub-aride de l'extrême sud de l'île (« complexe d'*E. mahafalensis* ») qui est caractérisé par une absence de saison humide régulière. Cette plus forte diversification dans des milieux *a priori* non favorables pourrait être liée à la variabilité des patrons morphologiques observés pour les espèces des **clades d'*E. horombensis*, d'*E. mahafalensis* et d'*E. genoudiana*** : cette diversité permettrait à ces espèces d'adopter une stratégie efficace pour répondre aux fortes contraintes des divers milieux de vie dans lesquels elle croissent ; elle leur donnerait la possibilité d'occuper des niches écologiques qui ne favorisent pas en général la croissance des plantes.

V. Conclusion et perspectives

L'investigation des tempi de diversification en rapport avec l'histoire évolutive du genre *Euphorbia* est un travail particulièrement problématique en raison de tous les obstacles déjà cités précédemment (cf. Chapitre 1) : le manque d'une taxonomie fiable pour de nombreuses

espèces, le faible échantillonnage taxonomique disponible pour les analyses moléculaires et la difficulté d'obtenir un cadre chronologique pour les études phylogénétiques.

En dépit de ces difficultés, le travail présenté ici correspond à une première exploration statistique des problématiques liées à l'estimation et à la discussion des taux de diversification chez *Euphorbia*. L'avantage du modèle taxonomique que nous avons choisi (i.e. le clade GDD) réside dans la forte représentativité de l'échantillonnage que nous avons à notre disposition, dans la robustesse de l'hypothèse phylogénétique que nous pouvions utiliser, et dans la connaissance que nous avons de l'exceptionnelle diversité morphologique et écologique de ce groupe.

À l'aide d'outils statistiques développés récemment, nous avons montré que le taux de diversification n'est pas constant au sein du clade GDD et qu'il est possible d'identifier une récente période d'accélération (~ -3,5 Ma) au sein d'un clade d'euphorbes de la section *Goniostema* caractérisé par une occupation des milieux induisant des stress environnementaux prononcés (températures fortes, aridité) ainsi que par une morphologie générale très variable.

Des limitations d'ordre méthodologique et taxonomique amènent à considérer ces résultats avec circonspection. Ainsi, la seule utilisation de points de calibrations secondaires pour les analyses de datation moléculaire est problématique (cf. Chapitre 5), les méthodes choisies pour investiguer les tempi de diversification semblent présenter des biais statistiques encore incompris (Rabosky 2010) et les délimitations taxonomiques de quelques espèces sont toujours floues (cf. Chapitre 1 et Chapitre 5). Dans le but d'améliorer la présente étude, nous nous proposons dans un premier temps d'éclaircir la taxonomie du groupe (notamment au moyen des outils moléculaires) et de proposer des méthodes de datation et de reconstruction d'arbres alternatives. Nous tenterons, en collaboration avec d'autres équipes, d'étendre les études de diversification à l'ensemble du sous-genre *Euphorbia* (voir Dorsey et al. sous presse), ce qui permettra d'étudier dans un contexte élargi les plus grands clades d'euphorbes malgaches. Enfin, nous expérimenterons les outils statistiques qui permettent de tester les corrélations entre d'une part des scénarii de reconstruction de caractères ancestraux et d'aires géographiques ancestrales, et d'autre part des analyses de taux de diversification (Moore & Donoghue 2007, Alfaro et al. 2009b).

Chapitre 7

Weird plants in a special place: the evolution of succulence and growth form in a Malagasy radiation of *Euphorbia* (in prep. pour *Systematic Biology*)

Margaret K. Evans, Xavier Aubriot, Sebastien Lavergne, David Hearn, Maxime Lanciaux, Porter P. Lowry II, Thomas Haevermans.

Introduction

Succulent plants have such diverse, interesting, downright bizarre growth forms that they make an irresistible target for evolutionary studies of the relationship between form and function, between organism and environment. Succulence is thought to be an adaptation to arid conditions (Futuyama 1997, Niklas 1997), and the radiation of succulent plants in arid regions on two continents, in two distantly-related families, the cacti (Cactaceae) in the New World and cactus-like members of the spurge family (Euphorbiaceae) in the Old World, is used as a textbook example of convergent adaptive evolution (Raven et al. 1986, Futuyama 1997, Niklas 1997, Stearns & Hoekstra 2005). Yet there are no comparative studies that have attempted to evaluate the relationship between succulence and climate, particularly using modern tools (DNA-based phylogenetic hypotheses paired with statistical tests taking into account relatedness). Among other challenges, such a comparative study would require multiple origins of succulence. Consider the two radiations described above: Cactaceae are diverse (~1,850 species; Stevens 2001), but succulence appears to have evolved just once (Edwards et al. 2005, Edwards & Donoghue 2006) yielding a sample size of one. This stands in sharp contrast to Euphorbiaceae, where succulence has evolved multiple times and in multiple parts of the plant body (Steinmann 2001, Steinmann & Porter 2002, Horn et al. 2012), and within this family, the spectacularly diverse genus *Euphorbia* L. comprises at least as many species as cacti, making it the second largest genus of flowering plants (~ 1850-2,000 species) (Govaerts et al. 2000, Steinmann & Porter 2002, Mabberley 2008). Here we present

analyses of the relationship between succulence and climate in a clade of *Euphorbia* endemic to Madagascar and its surrounding islands that is fantastically varied in form (Figure 1).

From a distance, succulence seems like a straight-forward trait, but there are conflicting definitions (Eggli & Nyffeler 2009). We consider succulent plants to be characterized by succulent tissue in any of the three major plant organs - leaves, stems, or roots (Goebel 1889, Rowley 1980, Fahn & Cutler 1992, Eggli & Nyffeler 2009) - which “serves and guarantees an at least temporary storage of utilizable water, mak[ing] the plant temporarily independent from external water supply” (von Willert et al. 1990). Some definitions of succulence exclude plants with a caudex (a swollen, perennial stem at or near ground level) or tuber (a more general term referring to a storage organ derived from stem or root tissue). However, in at least some species, it is clear that tubers serve the function of storing water (Pate & Dixon 1981, Olson & Carlquist 2001, Eggi & Nyffeler 2009, Hearn 2009a,b), suggesting that studies of succulence, or growth forms conferring water storage, should also consider a caudex or tuber.

While the ecological and evolutionary literature is clear about the hypothesis that succulence is an adaptation to aridity, like succulence, aridity comes in many different flavors, such that this apparently simple hypothesis and its related predictions require elaboration. In fact, most predictions regarding the climatic conditions that favor succulence are formulated about cacti. Though many of us think of cacti as iconic of deserts, they are not prevalent in places subjected to very long or unpredictable drought; cacti are most prominent in areas with predictable drought less than 12 months in duration (seasonal drought; Gibson & Nobel 1986, Burgess 1995, Drezner 2005, Drezner 2006a, Medel-Narvaez et al. 2006, Eggli & Nyffeler 2009). Further, most cacti have shallow roots, which allow them to take full advantage of short pulses of soil moisture, *i.e.*, moisture that does not penetrate deeply (Gibson & Nobel 1986, Burgess & Shmida 1988, Nobel 1988, Burgess 1995, Schwinning & Ehleringer 2001). Finally, cacti are not considered to be favored in cold conditions (Gibson & Nobel 1986, Dimmitt 2000, Godinez-Alvarez et al. 2003, Drezner 2006b). The literature offers little information in the climatic conditions that should favor the variety of forms of succulence described above: succulence of leaves vs. cactiform stem succulence vs. caudiciform stem succulence (or water-storing root tubers).

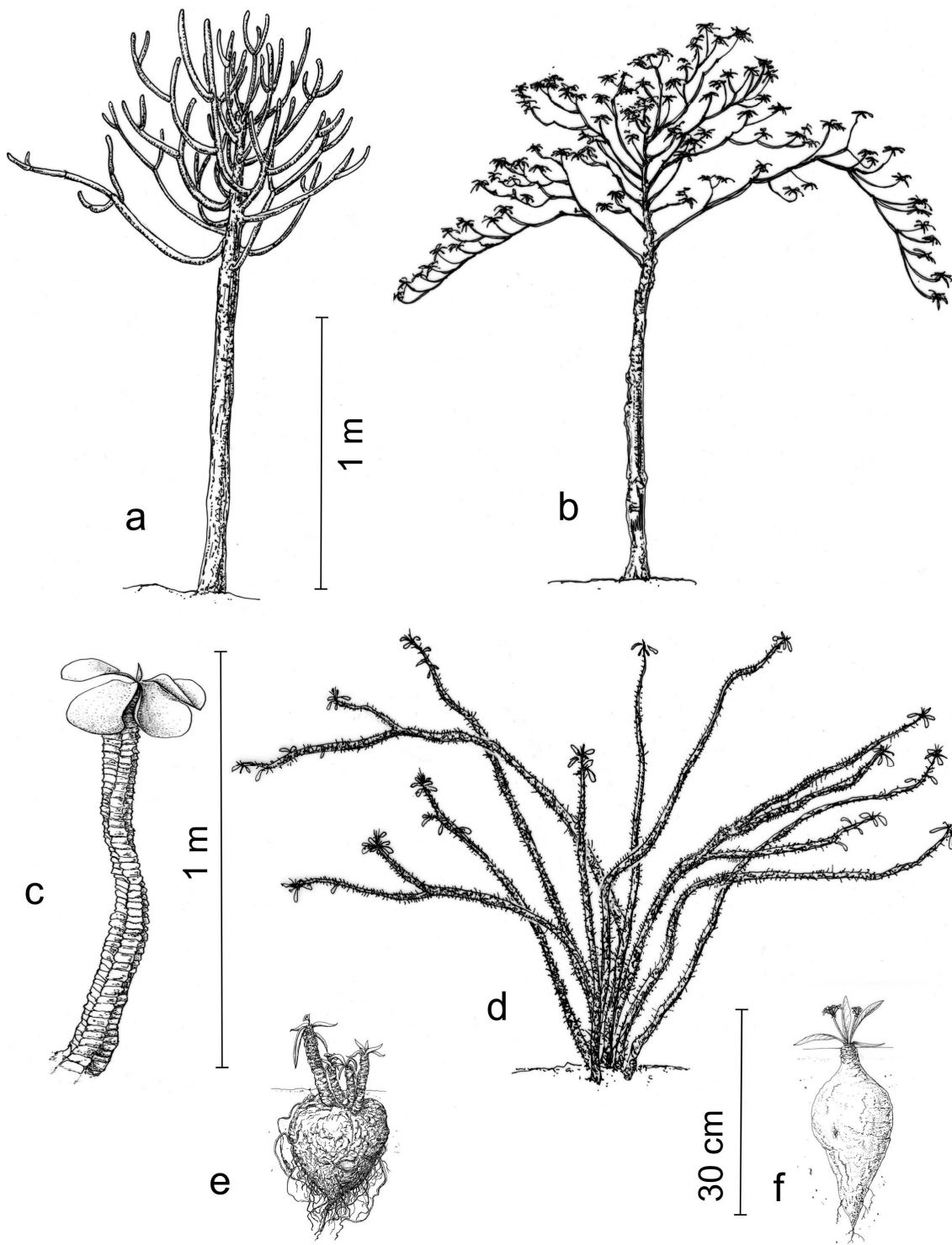


Figure 1 Growth form diversity in the *Euphorbia* clade GDD (Sections *Goniosstema*, *Denisophorbia*, and *Deuterocalli*): a) *E. alluaudii*, a coraliform tree, b) *E. aff. aprica*, a non-succulent tree, c) *E. capmanambatoensis*, a cactiform species, d) *E. milii*, a shrub, e) *E. cylindrifolia* a dwarf chamaephyte, and f) *E. quartziticola*, a true geophyte. These represent mature specimens, with the exception of *E. alluaudii*, which can reach a maximum height of 20 m. Drawings by Agathe Haevermans.

Together, *Euphorbia* sections *Goniostema* Baill. ex Boiss., *Denisophorbia* (Leandri) Croizat and *Deuterocalli* Croizat form a well supported and morphologically diversified clade (hereafter, *Euphorbia* GDD) that makes an ideal system in which to study the evolution of succulence in the broad sense defined above, *i.e.*, the diverse forms of succulence expressed across the land plants. This clade accounts for about 70% of Madagascar's ca. 170 species of *Euphorbia* (Haevermans et al. 2009), making the island a global hotspot of diversity for the genus. The GDD clade includes trees and shrubs with stems and leaves exhibiting varying degrees of succulence, some with tuberous roots; "cactiform" species (single-stemmed or sparsely-branched plants with highly succulent stems); geophytes and dwarf chamaephytes with a highly developed underground caudex and succulent leaves; and thorny shrubs such as *E. milii*, the famous "crown of thorns" (Figure 1) (Haevermans et al. 2004). This level of growth form diversity is unparalleled at the subgeneric level among flowering plants and is more characteristic of entire families such as Asteraceae, Apocynaceae, or Cucurbitaceae. The *Euphorbia* GDD radiation includes more than 90 species (123 taxa including infraspecific entities), with section *Goniostema* accounting for the majority of the clade (ca. 75 species; Haevermans et al. 2009). Species discovery, circumscription and description is not complete, but recent progress provides a robust phylogenetic framework for analysis of trait evolution (Haevermans et al. 2004, Zimmerman et al. 2010, Horn et al. 2012, Dorsey et al. in press).

Given that the climatic predictions described above regarding succulence may or may not apply to the diversity of forms of succulence in *Euphorbia* GDD, we adopt a two-stage approach to our analysis. First we explore climatic variables that might be important for succulence; data are available for many of them (*i.e.*, the 19 Bioclim variables from worldclim.org; Hijmans et al. 2005), although this places the investigator in a difficult position as correlations between these variables are high, which makes it inappropriate to include them all in a single test (multicollinearity), yet multiple tests raise the risk of type 1 error. A key objective of the exploratory work is thus to identify a suitable subset of climate variables for statistical testing. For this, we use ordination techniques to generate a reduced-dimension climate space in which the distribution of traits can be examined. Based on this, the second stage involves testing the relationships between traits and the selected set of climate variables, taking into account the pseudo-replication that arises due to the relatedness of species. Using this approach, we seek to obtain results that may yield new insight into the climatic conditions favoring the evolution of different types of succulence in plants.

Material and Methods

Phylogenetic inference

Phylogenetic reconstruction of Malagasy *Euphorbia* involved a sample of 279 individuals corresponding to about 82 species. Of the 279 individuals, 30 were samples representing as many outgroup taxa for the GDD clade, selected from across the four recently-established sub-genera of *Euphorbia* (Horn et al. 2012), including representative species native to Madagascar and other parts of the world. Sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* and *Goniostema*, which comprise the GDD clade, were represented respectively by 12, 34, and 204 samples (corresponding to 2, 8 and ca. 63 species, respectively, and representing 90% of the estimated diversity in the clade). DNA from these samples was sequenced for 6 chloroplast markers (*atpI-atpH*, *psbA-trnH*, *ndhA*, *matK*, *trnQ-5'rps16* and *rbcL*) and 2 nuclear regions (ITS and ETS) resulting in a molecular data set of 2214 sequences, 8507 pb long each, when aligned (less than 1% of missing data).

Sequence matrices were aligned using MUSCLE (version 3.8; Edgar 2004) and MAFFT (version 6; Katoh et al. 2002) employing the L-INS-I algorithm for MAFFT. Small inversion events were detected for *psbA-trnH* and *trnQ-5'rps16* alignments, but Aubriot et al. (2013) have shown that they are not species specific, and in order to avoid phylogenetic reconstruction biases they were manually corrected.

All DNA regions were analyzed separately using ML and Bayesian methods. The best-fit model for each region was selected using the Akaike information criterion (AIC) implemented in MrModelTest 2.2 (Nylander 2004). The GTR+ Γ +I model was selected for ITS, ETS, *atpI-atpH*, the GTR+ Γ model for *psbA-trnH*, *ndhA*, *matK*, *trnQ-5'rps16*, and the GTR+I model for *rbcL*. Topological incongruences were visually inspected and, following a total evidence approach (Eernisse & Kluge 1993, Siddal & Kluge 1997), all the regions were concatenated in a combined data set.

Topology reconstruction and relative divergence times were estimated simultaneously with BEAST v1.7.2 (Drummond et al. 2012). Nuclear regions (ITS and ETS) were analyzed in a same partition following the GTR+ Γ +I model. Chloroplastic regions were partitioned according to their inferred model of evolution. This resulted in three additional partitions: *atpI-atpH* was partitioned under a GTR+I model, *psbA-trnH*, *ndhA*, *matK*, *trnQ-5'rps16* formed a single partition analyzed with the GTR+ Γ model, and *rbcL* followed a GTR+I model. Substitution models, rate heterogeneity and base frequencies were unlinked across partitions.

Inferring dated phylogenies typically involves using fossils to temporally constrain interior nodes. The fossil record of *Euphorbia* is, however, poor, with just one leaf-fossil candidate from Gran Canaria (Macaronesia) found above lava-flows dating from ca. 3.9 My ago (Anderson et al. 2009). Using fossil data for other Euphorbiaceae, divergence time-estimates and geological constraints, Bruyns et al. (2011) recently published a dated phylogeny of Old World *Euphorbia*. Their taxonomic sampling included few representatives of our ingroup taxa, so we relied on two estimated dates as temporal constraints for our BEAST analysis; the inferred ages of subgenus *Euphorbia* (29.94 My; 95% HDP = 22.49–39.56) and of our ingroup (12.65 My ; 95% HDP = 7.099–19.62) served as secondary calibration points. Uncertainty regarding these estimated dates was taken into account by assigning a normal prior distribution to the two calibration points (as recommended by Ho 2007, Couvreur et al. 2008, Bergh 2009, Su & Saunders 2009). Divergence times were estimated under a relaxed uncorrelated lognormal molecular clock that allows for independent rates to vary along branches according to a lognormal distribution (Drummond et al. 2006). We specified a Yule speciation tree prior, which assumes a constant rate of speciation per lineage, as recommended by Drummond et al. 2007 for species-level phylogenies. No restrictions were placed on the topology.

Three independent Markov Chain Monte Carlo (MCMC) runs were performed, each of 80 million generations, sampling every 4000 generations. MCMC samples were inspected using Tracer 1.5 (Rambaut & Drummond 2007) to confirm the convergence of the chains and the stability of all the parameters. After removing the 25% burn in, the three independent runs were combined using LogCombiner 1.7.2 (Drummond et al. 2012). The sampled posterior trees were summarized with TreeAnnotator 1.7.2 (Drummond et al. 2012) to generate a maximum clade credibility tree.

In order to consider just one sample per ingroup species, the consensus tree was trimmed to remove duplicates. We retained a sample of all OTUs that were associated with both an unambiguous taxonomic circumscription and reliable locality data. Several members of the GDD clade have unclear taxonomic limits, which leads to in uncertainty in sample identification and the monophyly of the species concepts used in the phylogenetic reconstruction. We opted to deal with each case separately based on the amount of uncertainty involved.

First, several OTUs related *a priori* to *Euphorbia pyrifolia* — a non Malagasy member of *E.* section *Denisophorbia* — but occurring in different islands (Mauritius, Assumption Island, Aldabra Atoll and Granitic Seychelles islands) were considered to be different from

one another. Second, spiny xeric bushes *Euphorbia* related to *E. mahafalensis* and *E. milii* are often very difficult to identify at the species level due to the lack of clarity of the protologues; the taxonomy of these group of species is thus poorly understood. Species related to *E. mahafalensis* (e.g. *E. retrospina*, *E. razafindratsirae*, *E. croizatii*, *E. rubrostriata*, *E. hoffstaetteri*) form, in terms of global morphological features, distribution area and ecological preferences a very homogeneous group, and we thus decided to consider this group of putative species as constituting a unique UTO, “*E. mahafalensis* complex”. Most taxa directly related to *E. milii* have been described as infrageneric concepts (viz. varieties) and this taxonomical assemblage turned out to be polyphyletic (Aubriot et al. in prep.). As a consequence, we reduced *E. milii* sampling to two monophyletic assemblages for which we had clear morphological and geographical data, viz. *E. milii* var. *milli* from the North Malagasy hauts-plateaux region and *E. milii* var. *longifolia* from the South one.

Third, we treated the polyphyly and the paraphyly of two specific concepts: *Euphorbia primulifolia* and *E. alluaudii*. Given that specimens related to *E. primulifolia* form three well sustained unrelated assemblages which are each one specific of a geographical area, we considered each clade as a different OTU which was named following the geographical provenance of the specimens (*E. aff. primulifolia* var. *primulifolia*, *E. aff. primulifolia* — Isalo et *E. aff. primulifolia* — Horombe). In the small section *Deuterocalli* *E. alluaudii* concept refer to two unrelated assemblages, one being closer to *E. cedrorum* than to the other *E. alluaudii* population. Nevertheless, these two lineages are very homogeneous morphologically and eco-geographically, and we ignored this still intractable problem by selecting one clade as representative of *E. alluaudii*.

We eventually end up with a 67 tip phylogeny (starting from one with 279 tips; Supplementary Figure 1), which accounts for ca. 74% of the diversity in the GDD clade. Considering that all the un-sampled taxa are either poorly known or inadequately circumscribed, we regard our sampling as representative of the diversity of the group, especially as problematical taxa such as *E. mahafalensis* and *E. milii* were represented as was some of the ‘hidden’ diversity of clade through the inclusion of selected samples representing OTUs whose initial delimitation was shown to paraphyletic and polyphyletic.

Succulence/Life form data

As it was impossible to gather quantitative measures of the succulence from every organ of all taxa, we devised a qualitative scheme for coding different types of succulence in leaves, stems, and roots. By coding life-form (viz. geophyte, dwarf chamaephyte, “cactiform” plant, bush or tree), general succulence was also taken into consideration through its association with the “cactiform” habit.

The coding of morphological traits drew on multiple sources of information. Direct coding was done using in-field observations and available images (photos, drawings, etc.), examination of living collections in greenhouses [at the MNHN in Chèvreloup (France), Heidelberg (Germany), and Wageningen (Netherlands)] and outdoor collections in Madagascar (Tsimbazaza Botanical Garden in Antananarivo, and Antsokay Arboretum in Tuléar), as well as herbarium specimens (mostly from MNHN and MBG). When coding could not be done by direct observation, we used the literature (protologues, taxonomic revisions, books on Malagasy succulent species, etc.) and the expertise of Malagasy plant specialist. Characters and character states were coded as follows:

1. **Leaf succulence:** (0) Leaves weakly succulent, (1) Leaves rigid , « semi-succulent », (2) Leaves highly succulent.

This morphological trait is related to the capacity of leaves to store water. Definition and coding of the qualitative states are based on visual aspect (viz. width of the blade, visibility of leaves veins) and leaf texture (viz. leaves bendable or not). Weakly succulent leaves (0) have a thin blade with clearly visible veins, and are easily bendable. Semi-succulent leaves (1) have a slightly thick, rigid blade with veins often not-well impressed, and they are easily breakable. Highly succulent leaves (2) have a very thick, rigid and unbendable blade; all veins are inconspicuous.

2. **Tuber:** (0) Non tuberous roots, (1) Tuberous roots.

This trait relates to the ability of a plant to store water in its root system. The absence (0) and presence (1) of an inflated root system has been coded following a binary scheme.

3. **Growth form:** (0) Geophyte, (1) Dwarf chamaephyte, (2) Sparsely branched “cactiform”, (3) Bush, (4) Tree (Figure 1).

Geophytic species (0) are mostly subterranean with a large caudex and underground twigs; only leaves and cyathia are exposed above the surface. Dwarf chamaephytes (1) are characterized by a subterranean caudex that bears short monocaulous twigs (never exceeding 60 cm from the surface). Some species are “cactus-like” euphorbs (2). They are poorly

branched and possess very inflated stems. Bushy euphorbias (3) lack a true trunk and have numerous basal branches. Several taxa are tree with a real trunk (4).

Locality Data

[Data sources, field observations, geo-referencing and data verification ; in prep., cf. Chapitre 2. 5.]

Climate Data, Ordination

We used the 19 “bioclim” variables available from Worldclim (<http://www.worldclim.org/>). These include 11 temperature-related variables (mean annual temperature, minimum temperature in the coldest month, mean temperature of the wettest and driest quarters, etc.), and eight precipitation-related variables (mean annual precipitation, total precipitation of the driest and wettest quarters, precipitation seasonality, etc.). Bioclim data were downloaded at the highest possible resolution (~ 1 km²; Hijmans et al. 2005), and extracted for all localities recorded for the *Euphorbia* GDD clade (using ArcGIS version 10).

We compared two different multivariate ordination techniques for reducing the dimensionality of the Bioclim data: principle components analysis (PCA) and the outlying mean index (OMI; Dolédec et al. 2000). Based on plots of species’ centroids in PCA and OMI space (axes 1 vs. 2), we selected the OMI method for further analyses (see Results). OMI is a type of discriminant analysis, and unlike PCA, this ordination process is designed to maximize separation of species niches in the reduced-dimension niche space. In particular, an OMI analysis produces a transformation of the original variables (here, the 19 Bioclim variables) that maximizes the distance between the centroids of the study species and the centroid of a hypothetical species that occurs evenly across the study landscape (*i.e.*, the mean environmental conditions among the sampled sites; Dolédec et al. 2000, Thuiller et al. 2004). OMI has several technical advantages, including the fact that it gives equal weight to all sites sampled, and that it makes no assumption about the shape of species response curves (Dolédec et al. 2000, Thuiller et al. 2004). This analysis was implemented using the R package ade4 (Thioulouse et al. 1997).

Tests of trait-climate relationships

Examination of the distribution of character states in OMI axes 1 vs. 2 climate space allowed us to focus on tests of climate-trait relationships of interest (see Results). In particular, we converted the two traits with more than two categories (leaf succulence and growth form) into binary variables. Leaf succulence was recoded so that semi-succulent leaves were grouped with non-succulent leaves, yielding a variable that contrasts species with highly succulent leaves against those without highly succulent leaves. Growth form was recoded into a variable contrasting species that are “cactiform” (monocaulous or sparsely branched treelets, all highly succulent) vs. those that are not. Further, it was clear that leaf succulence and the presence of a tuber had a tendency to vary with mean annual precipitation (MAP), and the “cactiform” growth form had a tendency to vary with mean annual temperature (MAT), which load on the diagonals of the OMI axis 1 vs 2 space (see Results), so we tested the ability of these underlying climate variables to predict species’ character state.

We used phylogenetic logistic regression to evaluate the ability of OMI axis 1 and 2 scores, as well as MAP and MAT, to predict species’ character state. These tests were implemented using the MCMCglmm package in R (Hadfield 2010, Hadfield & Nakagawa 2010), a flexible and powerful tool for building generalized linear mixed models. We modeled each of the three traits as a binomial response, accounting for the relatedness of species by including a correlation structure derived from the phylogeny. Bayesian posterior distributions of model parameters were estimated using Markov Chain Monte Carlo (MCMC) simulation in MCMCglmm. Prior distributions for the climate effects were normal distributions centered on zero, with variance a function of the estimated residual variance. This generates reasonably flat priors on the probability scale (Hadfield 2012). To determine appropriate MCMC parameters (number of iterations, burn-in, thinning), we first ran three chains using the consensus phylogeny and evaluated convergence using the Gelman-Rubin scale reduction factor, which compares the variance within vs. among chains (thus a value from 1 to 1.2 is considered acceptable; Gelman & Rubin 1992). Based on this, we chose 2×10^6 iterations, eliminating the first 10^6 as burn-in, and thinning the chains to 1/1000 samples (yielding 1000 samples per chain). *[To take into account phylogenetic uncertainty, we then repeated the MCMCglmm test using a random sample of 1000 trees taken from the post burn-in phase of the MrBayes analysis described above ; ongoing final analyses]*

Results

Climate, Climatic Niches

Species of *Euphorbia* belonging to the clade GDD are found throughout Madagascar, with multiple representatives in each of the four main bioclimatic regions described by Cornet (1974): the wet, mild forest of the east coast (green, Figure 2a), the relatively cool central highlands, with relatively strong temperature seasonality (blue, Figure 2a), the sub-arid south and southwest, (red, Figure 2a), and the climatically more heterogeneous western region (yellow, Figure 2a). We preferred the output from the OMI analysis over PCA because it nicely captured this climatic variation, with each one of Cornet's bioclimatic regions falling into one quadrant of the OMI axis 1 vs. 2 climate space (Figure 2c; see Supplementary Figure 2). Further, species were better separated from one another in OMI axis 1 vs. 2 space, compared to PCA axis 1 vs. 2 space (Supplementary Figure 2). Still, there are tight clusters of species corresponding to known geographical hotspots of diversity, such as Ankarana National Park, a distinctive karst landscape in northern Madagascar, the Fort Dauphin region in the southwest, and the Tulear region in the southwest (Moat & Smith 2007; Figure 2c).

The ordination diagram for OMI axes 1 vs. 2 (Figure 2b) illustrates the loadings of the original climate variables in this climate space; *e.g.*, annual temperature is highest in the upper left region and lowest in the lower right, while annual precipitation is highest in the lower left region and lowest in the upper right. Note that the driest region of the ordination diagram, in terms of annual precipitation, is also the region with the strongest precipitation seasonality (seasonal drought), and that the coolest region, in terms of mean annual temperature, is also the region with the greatest temperature seasonality. OMI axis 1 can be described as a gradient from wet and warm with little temperature seasonality to cooler and drier with greater temperature seasonality, whereas OMI axis 2 can be described as a gradient from wet and cool with even precipitation to drier and warmer with seasonal precipitation.

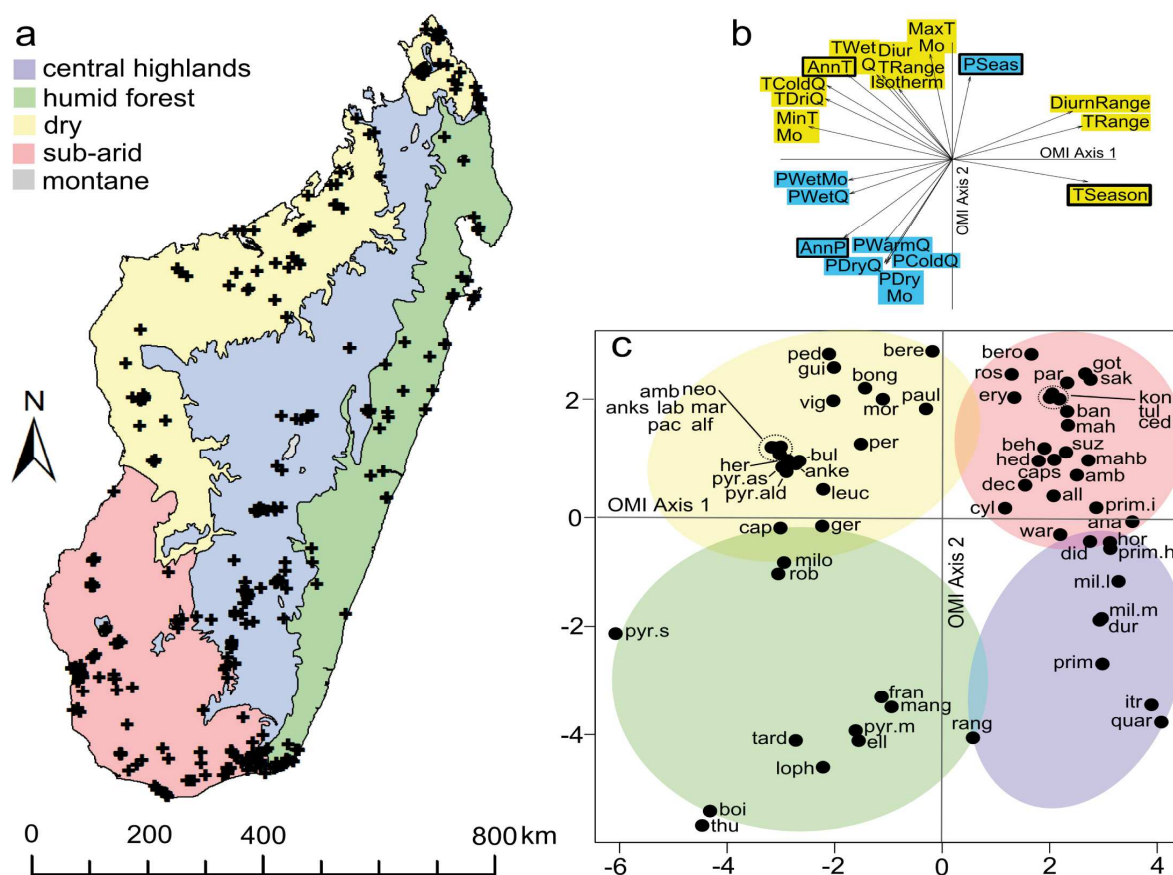


Figure 2. a) Major bioclimatic regions of Madagascar, defined by Cornet (1974). Crosses indicate *Euphorbia* GDD localities used in this study. b) Loading of the 19 bioclim variables in the OMI 1 vs. 2 climate space. These variables are: annual mean temperature (AnnT), mean diurnal temperature range (DiurTRange), isothermality (Isotherm), temperature seasonality (TSeason), maximum temperature of the warmest month (MaxTMo), minimum temperature of the coldest month (MinTMo), temperature annual range (TRange), mean temperature of the wettest quarter (TWetQ), mean temperature of the driest quarter (TDriQ), mean temperature of the warmest quarter (TWarmQ), mean temperature of the coldest quarter (TColdQ), annual precipitation (AnnP), precipitation of the wettest month (PWetMo), precipitation of the driest month (PDryMo), precipitation seasonality (PSeason), precipitation of the wettest quarter (PWetQ), precipitation of the driest quarter (PDryQ), precipitation of the warmest quarter (PWarmQ), precipitation of the coldest quarter (PColdQ). c) Ordination diagram of OMI axis 1 vs. 2, with centroids for each species (points). Colored circles overlain here were placed to encompass species' geographic distributions, with colors corresponding to panel a.

2. Phylogeny, Climatic Niche Evolution

The phylogenetic analysis described above generated a set of trees summarized in the consensus tree shown in Figure 3a. There are areas of both certainty and uncertainty in this phylogenetic hypothesis (Supplementary Figure 3). Based on the support for a key set of nodes (Figure 3a), we defined seven well-supported subclades, indicated using color: section *Deuterocalli* (red), section *Denisophorbia* (pink), two sizeable clades of species in section *Goniostema* that are found in the north of Madagascar, which we refer to as the “*thuarsiana*” clade and the “*boissieri*” clade (after the oldest named species in each; yellow and orange, respectively), plus *E. primulifolia* var. *primulifolia* (gray), and two sizeable clades of species

in section *Goniostema* that are mostly found in the south of Madagascar, hereafter the “*milii*” and “*lophogona*” clades (blue and green, respectively; also after the oldest named species in each). Note that the time scale for this radiation is approximately 13 million years, corresponding well with the timescale of other major radiations of succulent plants (cacti, agaves, ice plants; Arakaki et al. 2011).

Mapping the consensus phylogeny in climate space illustrates general patterns regarding the evolution of (putative) climatic niches in the *Euphorbia* GDD clade in Madagascar. Most species are found in places that are relatively warm (22-26 °C, mean annual temperature) and dry (50-150 cm, mean annual precipitation; Figure 3b,c). Yet there are exceptions: certain taxa have evolved to live in cooler places, such as *E. quartziticola*, *E. itremensis*, *E. primulifolia* var. *primulifolia*, *E. milii* var. *milii* and *E. milii* var. *longifolia* (of the central highlands), and others have evolved to grow in wetter places, such as *E. boissieri*, *E. thuarsiana*, *E. tardieuana*, *E. aff. pyrifolia* Seychelles, and *E. lophogona* (eastern forest and the Seychelles Islands). Multiple, independent colonizations/expansions into mesic environments are suggested by the fact that the species occupying these areas are derived from five different well-supported subclades (Figure 3c). The same is true, to a lesser degree, for the invasion of cooler environments (Figure 3b). Among the four largest subclades defined within the GDD clade (the “*thuarsiana*”, “*milii*”, and “*lophogona*” subclades, plus section *Denisophorbia* itself), note that members of the *lophogona* clade are found across the entire spectrum of mean annual temperature, whereas members of the *thuarsiana* clade are restricted to warm places (green vs. yellow horizontal bars, Figure 3b). Similarly, members of the *lophogona* and *milii* clades are found across a wide range of mean annual precipitation (green and blue), whereas members of the *thuarsiana* clade tend to be found in places that are relatively wet (yellow, Figure 3c). Species of section *Denisophorbia* are found in places that are relatively warm and dry (pink, Figure 3b,c).

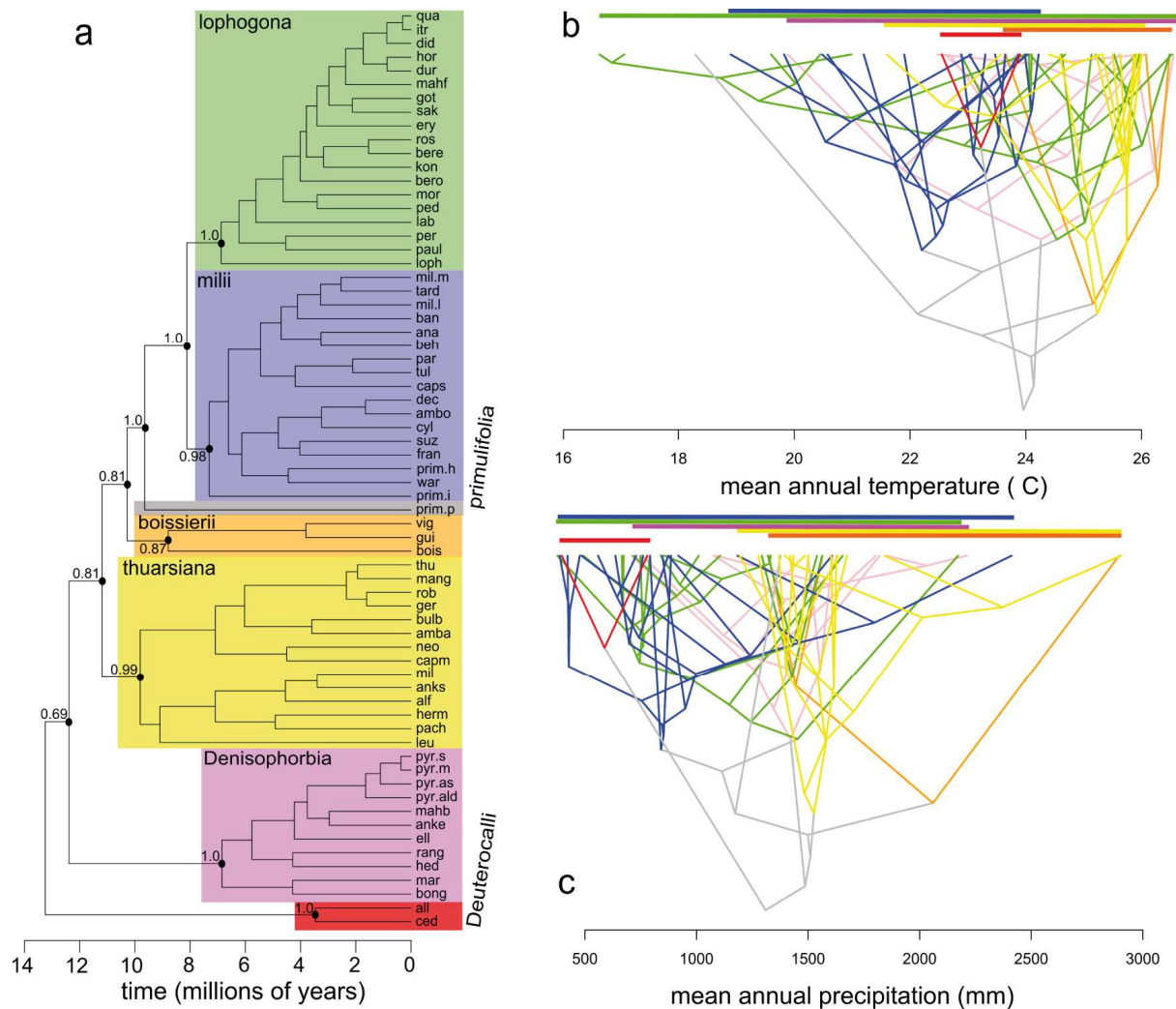


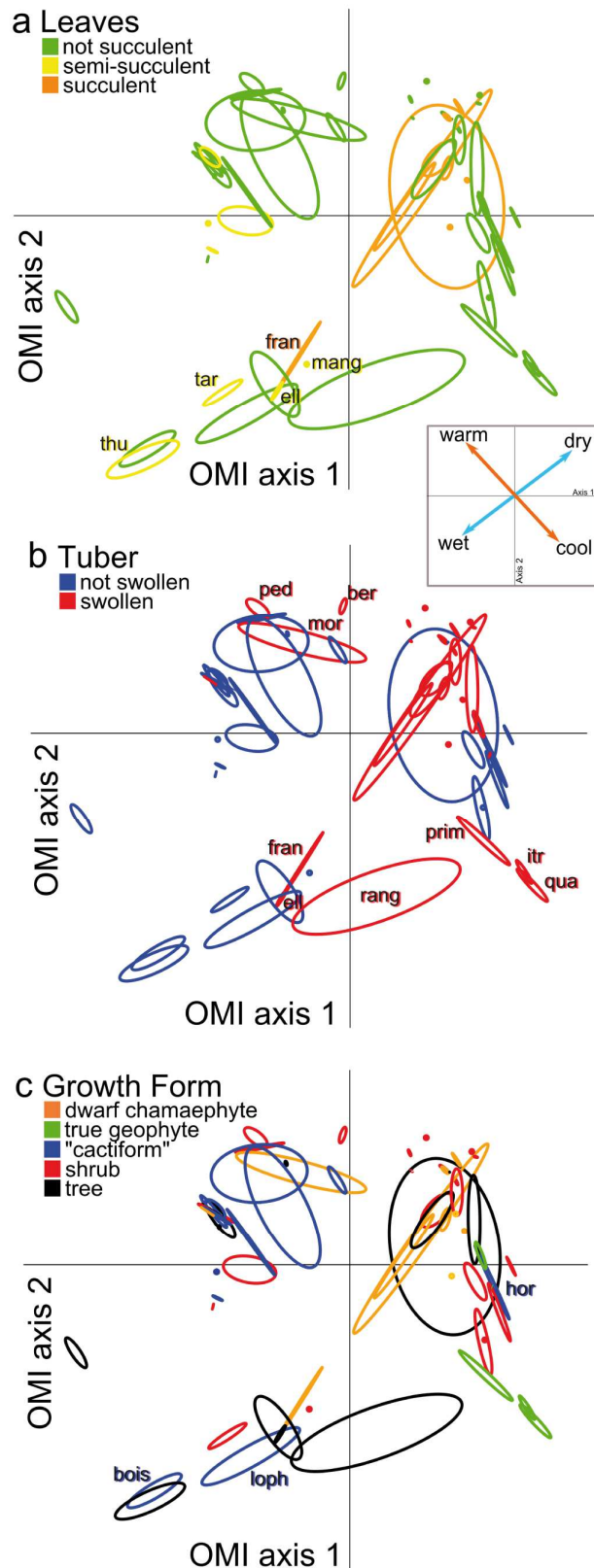
Figure 3. a) Consensus phylogeny of *Euphorbia* GDD based on DNA sequences for 67 samples. Node support (posterior probability) is shown for the backbone (see Supplementary Figure 3 for all posterior probabilities). Colors indicate seven strongly supported subclades. Full species are found in Supplementary Table 1. b) The same consensus phylogeny optimized with respect to mean annual temperature (MAT). MAT per species is shown in Supplementary Table 1; ancestral reconstruction of MAT for internal nodes used the "pic" method in the function traitgram (package picante, R version 2.12.2). Branches are colored according to the subclades shown in panel a. Horizontal bars indicate the range of values for each subclade. c) As in b, but mean annual precipitation.

Traits and Climate

Leaf Succulence – The majority of species have non-succulent leaves (47 out of a total of 67), with a smaller number having semi-succulent leaves (8 species) or strongly succulent leaves (12 species). Those with non-succulent leaves occur in all four quadrants of the OMI axis 1 vs. 2 ordination diagram (green, Figure 4a), whereas most of the species with highly succulent leaves (10 out of 12) are found in the upper right quadrant of the OMI axis 1 vs. 2 climate space, corresponding to the subarid south (orange, Figure 4a). One species with highly succulent leaves (*Euphorbia francoisii*) and half of the species with semi-succulent leaves (*E. thuarsiana*, *E. tardieuana*, *E. elliotii*, and *E. mangelsdorffii*) and are found in places that are

surprisingly wet, at least at the macro scale considered for our study (eastern rainforest; Figure 4a). Phylogenetic logistic regression of leaf succulence as a binary trait (using the consensus phylogeny) indicates that scores on OMI axes 1 and 2 are not predictive of the presence of highly succulent leaves. Mean annual precipitation, however, is significantly predictive of leaf succulence; highly succulent leaves have a tendency to evolve in places with the lowest mean annual precipitation (Figure 5a). At the lowest mean annual precipitation observed among *Euphorbia* GDD species (376 mm per year), the probability of having highly succulent leaves is 0.64 (Figure 5a; from a logistic regression not taking into account phylogeny).

Tuber – About half of the *Euphorbia* GDD species in our sample have a tuber (31 out of 67 taxa; red in Figure 4b). They are especially concentrated in the subarid south: just two out of 21 species in the upper right quadrant of the OMI ordination diagram do not have a tuber (Figure 4b). Among the comparatively few taxa of the central highlands, half of them have a tuber (6 out of 12), including *E. primulifolia* var. *primulifolia*, *E. itremensis*, and *E. quartziticola*. A few species at the drier end of the spectrum in the western region of Madagascar also have a tuber (*E. berevoensis*, *E. moratii*, and *E. pedilanthoides*). Phylogenetic logistic regression indicates that OMI axis 1 scores and mean annual precipitation are significantly related to the presence of a tuber: species with higher scores on OMI axis 1 and those occurring in places with less precipitation are more likely to have a tuber (the latter illustrated in Figure 5b). At the lowest mean annual precipitation observed among *Euphorbia* GDD species (376 mm per year), the probability of having a tuber is 0.86 (Figure 5b; from a logistic regression, not taking into account phylogeny).



Life Form – Geophytes and dwarf chamaephytes all have a caudex, and they occur in essentially the same places as species with a tuber, with the distinction that true geophytes are found in the central highlands, whereas dwarf chamaephytes are found primarily in the subarid south (Figure 4c). Two other growth form categories, trees and shrubs, are found in all four quadrants of the OMI climate space (corresponding to all four biogeographic regions). The 14 “cactiform” species (monocaulous or sparsely branched treelets, all highly succulent) tend to occur in the warmest region of the OMI climate space (Figure 4c), with the notable exceptions of *E. horombensis*, *E. lophogona*, and *E. boissieri* (mean annual temperature of 20.5, 22.9, and 23.7 °C, respectively).

Figure 4. Distribution of traits related to succulence in the climate space defined by OMI axis 1 vs. 2. The inset serves as a reminder of the interpretation of this climate space (see Figure 2c). Each species is represented by an ellipse showing the 95% density of that species' localities (using the `s.distri` function in the R package `ade4`); ellipses are colored according to the species' trait state (listed in Supplementary Table 1). Full species names as well as the abbreviations used here are shown in Supplementary Table 1. Traits are: a) leaf succulence, b) tuber, and c) growth form.

Character mapping of the “cactiform” category on the consensus phylogeny optimized with respect to mean annual temperature (Figure 5c) illustrates the tendency of this life form to evolve in the warmest places. At the highest mean annual temperature observed among *Euphorbia* GDD species (26.6 °C), the probability of being cactiform is 0.38 (Figure 5c; from a logistic regression not taking into account phylogeny).

[Further analyses and discussion will be present in the published version of this paper]

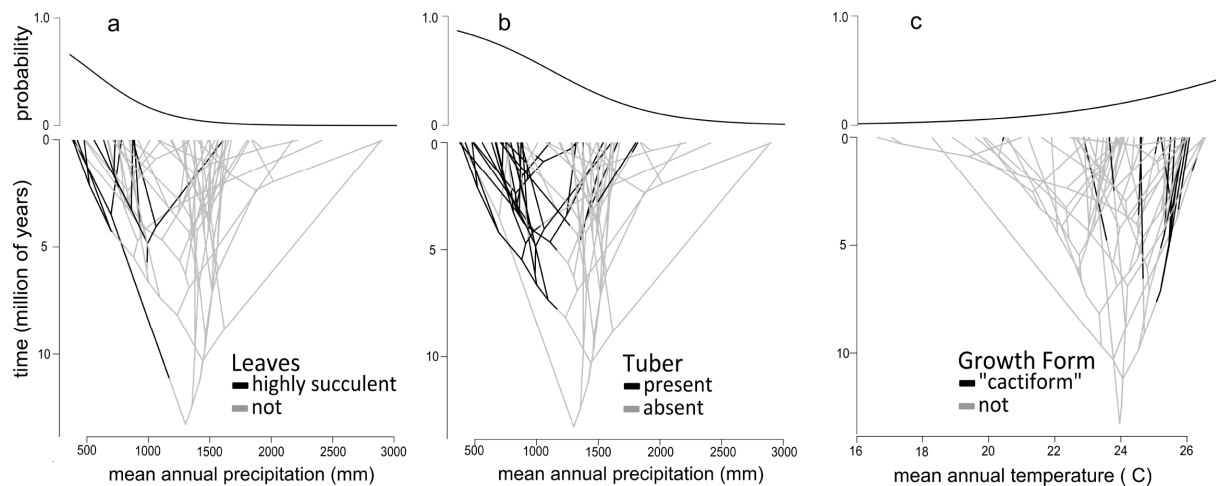


Figure 5. Lower panels: character mapping of three traits related to succulence on the consensus phylogeny optimized in climate space. Upper panels: predicted probability of having the succulent character state, as a function of the same climatic gradient (from a logistic regression not taking into account phylogeny). a) Leaf succulence converted to a binary trait; phylogeny optimized with respect to mean annual precipitation. b) As in panel a, but the tuber character. c) Growth form converted to a binary trait, contrasting the cactiform category against all other growth forms; phylogeny optimized with respect to mean annual temperature. Lower panels were created using the function phenogram in the R package phytools, after stochastic character mapping using the function make.simmap (also in phytools), specifying a symmetric rate matrix (forward transition probabilities equal to backwards transition probabilities).

Discussion

Our results suggest that several different kinds of aridity favor the evolution of succulence in various parts of the plant body. Two forms of succulence are significantly associated with low annual precipitation: highly succulent leaves and the presence of a tuber (Figure 5a,b). In our sample of *Euphorbia* species from Madagascar, low annual precipitation is correlated with high seasonality of precipitation (they load opposite one another in Figure 2b). That is, leaf succulence and tubers are positively associated with drought. Geophytes and dwarf chamaephytes, which all have a caudex (and thus, a tuber), are associated with these same climatic conditions (Figure 4c).

A third (iconic) form of succulence, cactiform stem succulence, is associated with warm temperatures: 11 out of the 14 cactiform species of *Euphorbia* GDD are found in places with mean annual temperature between 24 and 26 °C (Supplementary Table 1). The warmest places in Madagascar are also those where temperature seasonality is lowest (Figure 2b).

While this association between warm temperatures and the cactiform habit (Figure 5c) does not rise to the level of statistical significance, it is consistent with an abundant literature regarding the climatic conditions that favor tree-like cacti, the most famous example being that the northern range edge of the giant saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*) is limited by freezing temperatures (Shreve 1911, Steenberg & Lowe 1977, Nobel 1980, Pierson & Turner 1998). Nevertheless, some cacti (either prostrate or of short stature) tolerate colder temperatures (Nobel 1988) and occur at high altitude in South-America and as far north as Canada where some taxa are known to survive extreme freezing temperature as low as -50°C (Ishikawa & Gusta 1996).

Based on this, we propose that the evolution of a caudex or tuber in Malagasy *Euphorbia* permits adaptation to conditions that are more arid, in terms of MAP or length of drought, than cactiform stem succulence. In fact, we'd argue that caudiciform stem succulence is more narrowly adapted to extreme aridity than cactiform stem succulence, in the sense that plants with a caudex are highly susceptible to rot and cannot tolerate long periods of high soil moisture, which leads to mortality. Just as the Achilles' heel of cactiform stem succulence is cold temperatures, that of caudiciform stem succulence is too much water. In a paper focused on other issues, Hearn (in press) found a remarkably parallel result: the evolution of tubers in *Adenia* Forssk. (Passifloraceae) is negatively associated with precipitation in the driest month (an indicator of drought intensity).

We note that in the *Euphorbia* GDD clade, shrub and tree species are found in every type of climate, from mesic to subarid, from warm to cool (Figure 4c). Succulence occurs among these species, in varying forms and to varying degrees. Eight out of 23 shrub species possess a tuber (*E. banae*, *E. beharensis*, *E. berevoensis*, *E. berorohae*, *E. erythroculata*, *E. gottlebei*, *E. kondoi*, the elements comprising the *E. mahafalensis* complex, *E. pedilanthoides*, *E. rossii*, and *E. sakarahaensis*; Supplementary Table 1). These species, plus two others (*E. analavelonensis* and *E. tardieuana*), are similar to *E. milii*, the famous “crown of thorns” (Figure 1d), which is considered to have succulent stems, though we did not treat it as succulent. Even more succulent are “shrub” species such as *E. didieroides*, *E. duranii*, and *E. guillaumiana*, which are actually intermediate between the shrub and cactiform categories we used. Assessing the distribution of all of these species in OMI axis 1 vs. 2 quadrants with a simple Chi-square test, there is significant over-representation of succulence among shrubs in the driest quadrant, and under-representation among shrubs in the wettest quadrant ($\chi^2 = 8.12$, $df = 3$, $p\text{-value} = 0.04$). All nine shrubs in the upper right quadrant of the OMI diagram, compared to just one out of four species in the lower left quadrant, have the *E. milii*-

type succulence and/or a tuber. Succulence occurs in three out of five shrub species in each of the other two quadrants.

Among *Euphorbia* GDD trees, the two species from section *Deuterocalli* (*E. alluaudii* and *E. cedrorum*) are succulent: they have a growth form often described as “coraliform”, owing to the thickness of their stems and dense branching pattern (Figure 1a). These two species fall in the upper right quadrant of the OMI axis 1 vs. 2 space, the driest climatic region (Figure 4c). We did not attempt to model the evolution of this growth form, because it has just one origin in the GDD clade (convergent evolution of the coraliform habit has occurred in other *Euphorbia*). It is, though, a fascinating alternative form of tree succulence compared to pachycauls (the famous “bottle” trees, such as *Pachypodium lealii* Welw., *Adansonia digitata* L. and *Euphorbia mandravioky* Leandri).

Considering their morphological characteristics, the location in OMI climate space of a number of species is surprising. Most notably, the species with semi-succulent leaves are found in places that are particularly mesic. Six out of these eight species occur on substrates that are edaphically arid, either rock outcroppings (*E. capmanambatoensis*, *E. neohumbertii*, *E. tardieuana*), or sands (*E. elliotii*, *E. millotii*, *E. thuarsiana*). *E. elliotii* is also an outlier with respect to having a tuber and growing in a mesic place. *E. lophogona*, a striking outlier with respect to the cactiform habit, occurs on sands. Beyond these outliers with respect to trait-climate patterns, almost all of the species in Ankarana National Park (*E. alfredii*, *E. ambarivatoensis*, *E. ankaranae*, *E. ankarensis*, *E. hermanschwartzii*, *E. martinae*, *E. neohumbertii*, *E. pachypodioides*) are found on rock outcrops, as are others (*E. pyrifolia* Seychelles, *E. capmanambatoensis*), and a number of other species occur on sand (*E. itremensis*, *E. quartziticola*, *E. millotii*). These cases highlight the point that aridity is a phenomenon that arises primarily from the interaction between climate and substrate. Substrate has profound impacts on the speed and depth of water infiltration as well as the duration of moisture availability, either through a lack of soil or the size distribution of soil particles (sand particles 1mm vs. clay particles 2 μ m) and capillary spaces (Nobel 1983, McAuliffe 1994). We were, however, unable to obtain GIS layers that might be informative at the scale needed to include substrate in our statistical models of trait evolution.

One further point follows from considering the importance of substrate: apparent niche lability in species of the *Euphorbia* GDD clade is in fact underlain by niche conservatism. Species in the group are found in places that range in mean annual precipitation from 325 mm per year to >3000 mm per year, nearly a ten-fold difference. There appear to have been multiple, independent invasions or colonizations of mesic environments (Figure 3c; *i.e.*, the

eastern mesic forests). This paints a picture of niche lability, until one takes into consideration substrate. *Euphorbia* GDD species that are found in the mesic eastern forests occur on rock outcrops or sand, and even have succulent organs (e.g. *E. tardieuana*, *E. elliotii*, *E. thuarsiana*). Microenvironment (substrate, slope, aspect and topography) has a profound impact on the temperature and precipitation regime at the macro scale (1 km; Kumar et al. 1997, Austin & van Niel 2011).

[Further discussion and research perspectives will be present in the published version of this paper.]

Chapitre 8

Conclusion générale & Perspectives

Comme cela a été présenté dans le Chapitre 1 (Introduction générale), notre travail vise à explorer des axes d'études inédits pour le genre *Euphorbia*, en se focalisant sur l'étude des euphorbes malgaches. La révision de la classification infra-générique d'*Euphorbia* est en cours et la systématique du genre tend de plus en plus à refléter son histoire évolutive (voir Yang et al. 2012 et Dorsey et al. sous presse). La résolution du squelette phylogénétique d'*Euphorbia* ainsi que la caractérisation des lignées majeures (voir Horn et al. 2012) ouvre de nombreuses perspectives de recherche qui, jusqu'à aujourd'hui, étaient vouées à l'échec (Croizat 1972).

Au cours du travail de thèse, nous avons utilisé tout un panel d'outils méthodologiques afin de répondre à une série de questions cruciales pour la connaissance et la conservation des euphorbes malgaches. Dans une première partie nous avons contribué à l'amélioration de leur taxonomie. À l'aide de matériels nouvellement collectés, nous avons révisé la taxonomie d'un groupe d'euphorbes malgaches peu documentées qui n'a été formalisé que très récemment (sous le nom de section *Pachysantheae* — voir Dorsey et al. sous presse). Lorsqu'elles sont mises en relation avec les quatre autres taxa du groupe, les deux nouvelles espèces décrites permettent de dresser les contours d'un groupe qui comptabilise les bizarreries morphologiques : fruits au nombre de loculi très variable (uniloculaires, biloculaires, triloculaires), cyathes de grande taille et présentant des cyathophylles foliacées rapidement caduques, arbres plus ou moins pachycaules parfois de très grande taille. La position phylogénétique de cette section n'est pas élucidée et l'origine de ce groupe ainsi que sa diversification à Madagascar reste énigmatique.

L'identification à l'espèce des spécimens d'euphorbes malgaches reste un défi majeur aussi bien pour le botaniste que pour les différents organes de réglementation internationaux. À l'aide des régions barcode-ADN officielles, *matK* et *rbcL* (CBOL Plant Working Group 2009), et de deux autres régions de l'ADN (*psbA-trnH* et ITS), nous avons testé avec succès la méthode de DNA-barcoding sur les euphorbes malgaches (Aubriot et al. 2013). Ce résultat permet d'envisager un élargissement de cette procédure à l'identification de la totalité des

espèces d'euphorbes. Cette approche peut bénéficier à la recherche en taxonomie comme aux organismes de gestion.

Dans une deuxième partie du travail de thèse, nous avons utilisé un groupe d'euphorbes malgaches particulièrement diversifié, le clade GDD (*Euphorbia* sections *Goniostema*, *Denisophorbia* et *Deuterocalli*), pour clarifier les relations phylogénétiques de ce groupe et pour tester des approches statistiques qui permettent de modéliser et de mettre en relation les évolutions des états de caractères, les patrons de diversification et les modélisations de niches climatiques. Dans un premier temps nous avons reconstruit, dans un cadre chronologique, les relations phylogénétiques au sein du clade GDD. Nous avons utilisé un échantillonnage représentatif de la diversité spécifique du groupe ainsi qu'un jeu de marqueurs nucléotidiques qui comprend six régions chloroplastiques et deux régions nucléaires de l'ADN. Les résultats obtenus ont contribué à améliorer la résolution de l'histoire évolutive des sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia* et *Goniostema* ainsi que des taxons qui les constituent. Les analyses d'horloges moléculaires suggèrent une divergence récente des lignées qui forment le clade GDD (~ 13 Ma), ce qui confirme les résultats déjà obtenus par Bruyns et al. (2011). Il a en outre été montré que la section *Goniostema* présente un patron biogéographique caractéristique : tous les taxa basaux sont cantonnés à la zone nord de la Grande Île alors que les autres sont en majorité distribués dans les régions sub-arides du sud-ouest de Madagascar.

En se basant sur la topologie consensus datée obtenue, nous avons inféré l'histoire d'une série de caractères morphologiques clés (succulence de divers organes, port végétatif, morphologie des stipules, taille et disposition des cyathophylles). En outre, nous avons utilisé des outils statistiques pour décrire les tempi de diversification au sein du clade GDD. Tous les tests ont identifié une variation du taux de diversification au cours du temps. Le test statistique MEDUSA a détecté une augmentation de ce taux pour des lignées ayant divergé récemment au sein de la section *Goniostema* mais ce résultat reste sujet à caution.

Enfin, nous avons incorporé au modèle toutes les données de géolocalisation disponibles pour les espèces étudiées. Ceci nous a permis de décrire et de tester statistiquement les relations entre l'évolution des traits morphologiques et un jeu de variables climatiques. Nous avons mis en évidence le fait que des paramètres climatiques différents tendent à favoriser l'évolution de divers types de succulence chez les euphorbes malgaches (i.e. succulence des feuilles, succulence du système racinaire et port de type « cactiforme »).

Les résultats encourageants résumés ci-dessus permettent d'envisager une extension de ces méthodes à l'ensemble du sous-genre *Euphorbia* maintenant que la phylogénie du groupe tend à être bien élucidée (Dorsey et al. sous presse). Les fortes incongruences identifiées entre

les topologies chloroplastiques et nucléaires constituent néanmoins une difficulté de taille dans le cadre de la reconstruction de liens de parenté fiables. Il serait idéal de disposer pour les analyses futures du maximum d'information moléculaire disponible et en particulier de régions nucléaires indépendantes des marqueurs ITS et ETS. Cet objectif se heurte à plusieurs limitations : d'une part l'identification de régions de l'ADN nucléaire suffisamment variables et facilement séquençables pour l'ensemble des euphorbes est un défi difficile à surmonter (Wurdack com. pers.), d'autre part l'obtention, la gestion et l'analyse de très larges quantités de données moléculaires demandent d'importants moyens financiers et logistiques. Néanmoins, le « jeu en vaut la chandelle », car avec environ 700 espèces, le sous-genre *Euphorbia* représente le groupe d'euphorbe le plus diversifié (Dorsey et al. sous presse). Élargir ces études à l'ensemble du sous-genre permettraient en outre de prendre en compte le deuxième plus grand clade d'euphorbe malgache (i.e. le clade qui regroupe les sections *Tirucalli* et *Pervilleanae*), d'inclure les étonnantes espèces de la section *Pachysanthae* et de comparer leur diversification à Madagascar avec celle du clade GDD. Compte tenu de son impressionnante diversité morphologique et de sa très large zone de répartition, le sous-genre *Euphorbia* est un groupe d'étude particulièrement adapté pour poursuivre l'exploration des relations entre l'évolution des traits morphologiques et les conditions de vie des espèces. À l'aide de toutes les informations géographiques et morphologiques dont nous disposons pour les espèces du sous-genre, nous projetons de préciser sa biogéographie et de modéliser les relations traits morphologiques / climats pour tous les grands clades qui le composent.

Le présent travail a permis de préciser (ou de mettre au jour) l'ambiguïté des circonscriptions taxonomiques de plusieurs espèces d'euphorbes malgaches. L'analyse du matériel moléculaire (barcoding ADN et inférences phylogénétiques) constitue un outil puissant qui peut contribuer à une meilleure délimitation des groupes infra-génériques et des espèces. Nous travaillons donc maintenant sur une prise en compte des données morphologiques, éco-géographiques et moléculaires dans le but de réviser la taxonomie de groupes d'euphorbes malgaches qui restent difficiles à étudier avec le seul critère morphologique (e.g. les sections *Denisophorbia* et *Tirucalli*, et les euphorbes naines et buissonnantes de la section *Goniostema*). Ces prochains travaux de révision taxonomique constitueront en outre l'occasion d'allonger la liste des espèces d'euphorbes malgaches, en décrivant près d'une vingtaine d'espèces nouvelles pour la science et en révisant la position taxonomique de plusieurs taxa décrits comme des entités infra-spécifiques (e.g. variétés d'*E. primulifolia* ou d'*E. mii*).

Références bibliographiques

Alejandro GD, Razafimandimbison SG, Liede-Schumann S (2005) Polyphyly of *Mussaenda* inferred from ITS and trnT-F data and its implications for generic limits in Mussaendeae (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, **92**: 544–557.

Alfaro ME, Santini F, Brock C, Alamillo H, Dornburg A, et al. (2009a) Nine exceptional radiations plus high turnover explain species diversity in jawed vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**: 13410–13414.

Alfaro ME, Brock CD, Banbury BL, Wainwright PC (2009b) Does evolutionary innovation in pharyngeal jaws lead to rapid lineage diversification in labrid fishes? *BMC evolutionary biology*, **9**: 255.

Alroy J (2008) The dynamics of origination and extinction in the marine fossil record. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**: 11536–11542.

Antonelli A, Sanmartín I (2011) Mass extinction, gradual cooling, or rapid radiation? Reconstructing the spatiotemporal evolution of the ancient angiosperm genus *Hedyosmum* (Chloranthaceae) using empirical and simulated approaches. *Systematic biology*, **60**: 596–615.

APG III (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **161**: 105–121.

Arakaki M, Christin PA, Nyffeler R, Lendel A, Eggli U, et al. (2011) Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **108**: 8379–8384.

Aubriot X (2009) Exploration morpho-anatomique et phylogénie du genre *Euphorbia* L.: exemple du clade Ω (sect. *Deuterocalii* Croizat, sect. *Denisophorbia* (Leandri) Croizat, s.g. *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert). Master dissertation. MNHN, Paris, France.

Aubriot X, Lowry II PP, Cruaud C, Couloux A, Haevermans T (2013) DNA Barcoding in a biodiversity hotspot: potential value for the identification of Malagasy *Euphorbia* L. listed in CITES Appendices I and II. *Molecular Ecology Resources*, **13**: 57–65.

Austin MP, Van Niel KP (2011) Improving species distribution models for climate change studies: variable selection and scale. *Journal of Biogeography*, **38**: 1–8.

Baillon HE (1858) Etude générale du groupe des Euphorbiacées. V. Masson, Paris, France.

Baillon HE (1861) Species Euphorbiacearum. A. Euphorbiacées africaines. Deuxième partie. *Adansonia*, **1**: 142–143.

Baillon HE (1886) Liste de plantes de Madagascar. *Bulletin Mensuel de la Société Linnéenne de Paris*, **1**: 614–616, 623–624.

Bain JF, Jansen RK (2006) A chloroplast DNA hairpin structure provides useful phylogenetic data within tribe Senecioneae (Asteraceae). *Canadian Journal of Botany*, **84**: 862–868.

Baldwin BG, Markos S (1998) Phylogenetic utility of the external transcribed spacer (ETS) of 18S-26S rDNA: congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia* (Compositae). *Molecular phylogenetics and evolution*, **10**: 449–463.

Bally PRO (1961) The Genus *Monadenium*. Benteli, Berne, Switzerland.

Barker FK, Lutzoni FM (2002) The utility of the incongruence length difference test. *Systematic biology*, **51**: 625–37.

Barres L, Vilatersana R, Molero J (2011) Molecular phylogeny of *Euphorbia* subg. *Esula* sect. *Aphyllis* (Euphorbiaceae) inferred from nrDNA and cpDNA markers with biogeographic insights. *Taxon*, **60**: 705–720.

Bentham G, Hooker JD (1880) *Genera Plantarum, Voluminis tertii, pars I*. L. Reeve & Co., London, UK.

Bergh NG, Linder HP (2009) Cape diversification and repeated out-of-southern-Africa dispersal in paper daisies (Asteraceae-Gnaphalieae). *Molecular phylogenetics and evolution*, **51**: 5–18.

Berry PE, Phillipson PB (2011) An earlier name for *Capuronia madagascariensis* Lourteig (Lythraceae). *Candollea*, **66**: 119–121.

Binojkumar MS, Balakrishnan NP (2010) The Genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) in India. A Taxonomic Revision. Bishen Singh Mahendra Pal Singh, New Delhi, India.

Blume CL (1825) Bijdragen tot de flora van Nederlandsch Indie, part 12. Lands Drukkerij, Batavia, Netherlands.

Boissier PE (1862) Euphorbiaceae subordo I. Euphorbieae. In A. DC *Prodromus*, **15**: 3–188.

Boissier PE (1866) Euphorbiaceae subordo I. Euphorbieae. (Addenda et Corrigenda). In A. DC *Prodromus*, **15**: 1261–1269.

Boiteau P (1947) Note sur les prétendus *Diacanthium* malgaches. *Notulae Systematicae*, **13**: 154–162.

Bokma F (2009) Problems detecting density-dependent diversification on phylogenies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **276**: 993–994.

Brown R (1814) General remarks, geographical and systematical, on the botany of Terra Australis. Appendix no. III, p. 533–613. In M. Flinders [ed.], A voyage to Terra Australis; undertaken for the purpose of completing the discovery of that vast country, vol. II. G. and W. Nicol, London, UK.

Bruyns PV, Mapaya RJ, Hedderson TJ (2006) A new subgeneric classification for *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in southern Africa based on ITS and *psbA-trnH* sequence data. *Taxon*, **55**: 397–420.

Bruyns PV, Klak C, Hanáček P, Leach LC, Pax M, et al. (2011) Age and diversity in Old World succulent species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Taxon*, **60**: 1717–1733.

Burgess TL (1995) Desert grassland, mixed shrub savanna, shrub steppe, or semidesert scrub? The dilemma of coexisting growth forms. Ch 2. pp 31-67 *In*: The Desert Grassland, M. P. McClaran and T. R. Van Devender, eds. The University of Arizona Press, Tucson, Arizona, U.S.A.

Burgess TL, Shmida A (1988) Succulent growth-forms in arid environments. Pp 383-395 in E. E. Whitehead, C. F. Hutchinson, B. N. Timmermann, and R. G. Verity (eds.), *Arid lands today and tomorrow*. Westview Press, Boulder, Colorado, U.S.A.

Burnham KP, Anderson DR (2003) *Model selection and multimodel inference, a practical information-theoretic approach*. Springer, New York, U.S.A.

Butchart SHM, Stattersfield AJ, Brooks TM (2006) Going or Gone: defining ‘Possibly Extinct’ species to give a truer picture of recent extinctions. *The Bulletin of the British Ornithologists’ Club*, **126**: 7–24.

Callmander MW, Schatz GE, Lowry II PP, Laivao MO, Raharimampionona J, et al. (2007) Identification of priority areas for plant conservation in Madagascar using Red List criteria: rare and threatened Pandanaceae indicate sites in need of protection. *Oryx*, **41**: 168–176.

Callmander MW, Phillipson PB, Schatz GE, Andriambololonera S, Rabarimanarivo M, et al. (2011) The endemic and non-endemic vascular flora of Madagascar updated. *Plant Ecology and Evolution*, **144**: 121–125.

Carracedo JC, Day S, Guillou H, Rodriguez-Badiola E, Canas JA, et al. (1998) Hotspot volcanism close to a passive continental margin: The Canary Islands. *Geological Magazine*, **135**: 591–604.

Carter S (1994) A preliminary classification of *Euphorbia* subgenus *Euphorbia*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **81**: 368–379.

Catalano SA, Saidman BO, Vilardi JC (2009) Evolution of small inversions in chloroplast genome: a case study from a recurrent inversion in angiosperms. *Cladistics*, **25**: 93–104.

CBOL Plant Working Group (2009) A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**: 12794–12797.

Chase MW, Hills HH (1991) Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon*, **40**: 215–220.

Chase MW, Salamin N, Wilkinson M, Dunwell JM, Kesanakurthi RP, et al. (2005) Land plants and DNA barcodes: short-term and long-term goals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **360**: 1889–1895.

Cheke A, Hume J (2008) *Lost Land of the Dodo*. T & AD Poyser, London, UK.

Cornet A (1974) Essai de cartographie bioclimatique à Madagascar. Notice explicative n°55. ORSTOM. Paris, France.

Couvreur TLP, Chatrou LW, Sosef MSM, Richardson JE (2008) Molecular phylogenetics reveal multiple tertiary vicariance origins of the African rain forest trees. *BMC biology*, **6**: 54.

Cowan RS, Chase MW, Kress WJ, Savolainen V (2006) 300,000 species to identify: problems, progress, and prospects in DNA barcoding of land plants. *Taxon*, **55**: 611–616.

Cremers G (1977) Architecture végétative de quelques espèces malgaches du genre *Euphorbia* L. *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique*, **47**: 55–81.

Cremers G (1984a) Les euphorbes coralliformes de Madagascar. *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique*, **54**: 23–64.

Cremers G (1984b) Les euphorbes géophytes de Madagascar. *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique*, **54**: 367–391.

Croizat L (1937) On the classification of *Euphorbia*. II. How should the cyathium be interpreted? *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, **64**: 523–536.

Croizat L (1972) An introduction to the subgeneric classification of "*Euphorbia*" L., with stress on the South-African and Malagasy species. III. *Webbia*, **27**: 1–221.

Cuénoud P, Savolainen V, Chatrou LW, Powell M, Grayer RJ, et al. (2002) Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcL*, *atpB*, and *matK* DNA sequences. *American Journal of Botany*, **89**: 132–144.

Cunningham C, Omland KE, Oakley TH (1998) Reconstructing ancestral character states: a critical reappraisal. *Trends in Ecology and Evolution*, **13**: 361–366.

Cunningham C (1999) Some limitations of ancestral character-state reconstruction when testing evolutionary hypotheses. *Systematic Biology*, **48**: 665–674.

Cusimano N, Renner SS (2010) Slowdowns in diversification rates from real phylogenies may not be real. *Systematic biology*, **59**: 458–464.

Cusimano N, Stadler T, Renner SS (2012) A new method for handling missing species in diversification analysis applicable to randomly or nonrandomly sampled phylogenies. *Systematic biology*, **61**: 785–792.

Darlu P, Lecointre G (2002) When does the ILD test fails ? *Molecular Biology and Evolution*, **19**: 432–437.

Davis CC, Webb CO, Wurdack KJ, Jaramillo CA, Donoghue MJ (2005) Explosive radiation of Malpighiales supports a mid-Cretaceous origin of modern tropical rain forests. *American Naturalist*, **165**: E36–E65.

Denis M (1921) *Les Euphorbiées des îles australes d’Afrique*. Imprimerie Nemourienne A. Lescot, Nemours, France.

Dilcher DL, Manchester SR (1988) Investigations of angiosperms from the Eocene of North America: A fruit belonging to the Euphorbiaceae. *Tertiary Research*, **9**: 45–58.

Dimmitt MA (2000) Flowering plants of the Sonoran desert. pp 153-264 in *A Natural History of the Sonoran Desert*. Phillips, S. J. and P. W. Comus, eds. Arizona-Sonora Desert Museum Press, Tucson, Arizona, U.S.A.

Dolédec S, Chessel D, Gimaret-Carpentier C (2000) Niche separation in community analysis: a new method. *Ecology*, **81**: 2914–2927.

Dorsey BL, Haevermans T, Aubriot X, Morawetz J, Riina R, et al. (sous presse) Phylogenetics, morphological evolution, and classification of *Euphorbia* subgenus. *Euphorbia. Taxon*, sous presse.

Dowton M, Austin AD (2002) Increased Congruence Does Not Necessarily Indicate Increased Phylogenetic Accuracy—The Behavior of the Incongruence Length Difference Test in Mixed-Model Analyses. *Systematic Biology*, **51**: 19–31.

Doyle JJ, Doyle JL, Rauscher JT, Brown AHD (2004) Diploid and polyploidy reticulate evolution throughout the history of the perennial soybeans (*Glycine* subgenus *Glycine*). *New Phytologist*, **161**: 121–132.

Drezner TD (2005) Saguaro (*Carnegiea gigantea*, Cactaceae) growth rate over its American range and the link to summer precipitation. *Southwestern Naturalist*, **50**: 65–68.

Drezner TD (2006a) Regeneration of *Carnegiea gigantea* (Cactaceae) since 1850 in three populations in the northern Sonoran Desert. *Acta Oecologica*, **29**: 187–186.

Drezner TD (2006b) Saguaro (*Carnegiea gigantea*) densities and reproduction over the northern Sonoran Desert. *Physical Geography*, **27**: 505–518.

Drummond AJ, Ho SYW, Phillips MJ, Rambaut A (2006) Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *PLoS Biology*, **4**: e88.

Drummond AJ, Ho SYW, Rawlence N, Rambaut A (2007) A Rough Guide to BEAST 1.4. Available from: http://beast_mcmc.googlecode.com/files/BEAST14_Manual_6July2007.pdf (accessed: 3 February 2012).

Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A (2012) Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular biology and evolution*, **29**: 1969–1973.

Duvall MR, Ervin AB (2004) 18S gene trees are positively misleading for monocot/dicot phylogenetics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **30**: 97–106.

Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, **32**: 1792–1797.

Edgar RC, Batzoglou S (2006) Multiple sequence alignment. *Current opinion in structural biology*, **16**: 368–373.

Edwards EJ, Nyffeler R, Donoghue MJ (2005) Basal cactus phylogeny: Implications of *Pereskia* paraphyly for the transition to the cactus life form. *American Journal of Botany*, **92**: 1177–1188.

Edwards EJ, Donoghue MJ (2006) *Pereskia* and the origin of the cactus life-form. *The American Naturalist*, **167**: 777–793.

Eernisse DJ, Kluge AG (1993) Taxonomic congruence versus total evidence, and amniote phylogeny inferred from fossils, molecules, and morphology. *Molecular biology and evolution*, **10**: 1170–1195.

Eggl U, Nyffeler R (2009) Living under temporarily arid conditions – succulence as an adaptive strategy. *Bradleya*, **27**: 13–36.

Eichler AW (1878) Blüthendiagramme construiert und erläutert. W. Engelmann, Leipzig, Germany.

Emerick CM, Duncan RA (1982) Age progressive volcanism in the Comores Archipelago, western Indian Ocean and implications for Somali plate tectonics. *Earth and Planetary Science Letters*, **60**: 415–428.

Evans RC, Alice LA, Campbell CS, Kellogg EA, Dickinson TA (2000) The granule-bound starch synthase (GBSSI) gene in the Rosaceae: multiple loci and phylogenetic utility. *Molecular phylogenetics and evolution*, **17**: 388–400.

Fahn A, Cutler DF (1992) Xerophytes. Gebrüder Borntraeger Berlin / Stuttgart. (Series: Handbuch der Pflanzenanatomie, Spezieller Teil, Band 13, Teil 3).

Farris JS, Källersjö M, Kluge AG, Bult C (1994) Testing significance of incongruence. *Cladistics*, **10**: 315–319.

Futuyama DJ (1997) Evolutionary biology. Ed. 3. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, U.S.A.

Garrick RC, Meadows CA, Nicolas AN, Nason JD, Dyer RJ (2008) A set of polymorphic nuclear intron markers for conservation genetics and phylogeography of *Euphorbia* species (*Pedilanthus* clade). *Conservation Genetics*, **9**: 1673–1676.

Gelman A, Rubin DB (1992) Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Statistical Science*, **4**: 457–511.

Gibson AC, Nobel PS (1986) The cactus primer. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, U.S.A.

Gilbert MG (1987) Two new geophytic species of *Euphorbia* with comments on the subgeneric grouping of its African members. *Kew Bulletin*, **42**: 231–244.

Gilinsky NL (1994) Volatility and the Phanerozoic decline of background extinction intensity. *Paleobiology*, **20**: 445–458.

Godinez-Alvarez H, Valverde T, Ortega-Baes P (2003) Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*, **69**: 173–203.

Goebel K (1889) Pflanzenbiologische Schilderungen. Erster Teil. N. G. Elwert'sche Verlagsbuchhandlung, Marburg, Germany.

Govaerts R, Frodin DG, Radcliffe-Smith A (2000) World Checklist and Bibliography of Euphorbiaceae (and Pandanaceae). Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

Graham SW, Olmstead RG (2000) Evolutionary significance of an unusual chloroplast DNA inversion found in two basal angiosperm lineages. *Current Genetics*, **37**: 183–188.

Graur D, Martin W (2004) Reading the entrails of chickens: molecular timescales of evolution and the illusion of precision. *Trends in Genetics*, **20**: 80–86.

Hadfield JD (2010) MCMC methods for Multi-response Generalised Linear Mixed Models: The MCMCglmm R Package. *Journal of Statistical Software*, **33**: 1–22.

Hadfield JD, Nakagawa S (2010) General Quantitative Genetic Methods for Comparative Biology: Phylogenies, Taxonomies, Meta-analysis and Multi-trait Models for Continuous and Categorical Characters. *Journal of Evolutionary Biology*, **23**: 494–508.

Hadfield JD (2012) MCMCglmm Course Notes. Available from: <http://cran.r-project.org/web/packages/MCMCglmm/vignettes/CourseNotes.pdf> (accessed: 11 October 2012).

Haevermans T (2003) Le genre *Euphorbia* à Madagascar: phylogénie moléculaire et systématique. Ph.D. Dissertation. MNHN, Paris, France.

Haevermans T, Labat JN (2004) A synoptic revision of the Malagasy endemic *Euphorbia pervilleana* group. *Systematic botany*, **29**: 118–124.

Haevermans T, Hoffmann P, Lowry II PP, Labat JN, Randrianjohany E (2004) Phylogenetic analysis of the Madagascan *Euphorbia* subgenus *Lacanthis* based on ITS sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **91**: 247–259.

Haevermans T, Rouhan G, Hettterscheid W, Teissier M, Belarbi K, et al. (2009) Chaos revisited: nomenclature and typification of the Malagasy endemic *Euphorbia* subgenus *Lacanthis* (Raf.) MG Gilbert. *Adansonia*, **31**: 279–299.

Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic acids symposium series*, **41**: 95–98.

Hallé F, Oldeman RAA (1970) Essai sur l'architecture et la dynamique de croissance des arbres tropicaux. Masson & Cie, Paris, France.

Hallé F, Oldemann RAA, Tomlinson PB (1978) Tropical Trees and Forests: An Architectural Analysis. Springer, Berlin, Germany.

Harmon LJ, Weir JT, Brock CD, Glor RE, Challenger W (2008) GEIGER: investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics*, **24**: 129–131.

Harper GJ, Steininger MK, Tucker CJ, Juhn D, Hawkins F (2007) Fifty years of deforestation and forest fragmentation in Madagascar. *Environmental Conservation*, **34**: 325–333.

Harvey PH, May RM, Nee S (1994) Phylogenies without fossils. *Evolution*, **48**: 523–529.

Hassal DC (1977) The genus *Euphorbia* in Australia. *Australian Journal of Botany*, **25**: 429–453.

Haworth AH (1819) *Synopsis Plantarum Succulentarum*. Sumptibus J. L. Schrag, Nürnberg, Germany.

Hearn DJ (2009a) Descriptive anatomy and evolutionary patterns of anatomical diversification in *Adenia* (Passifloraceae). *Aliso*, **27**: 13–38.

Hearn DJ (2009b) Developmental patterns in anatomy are shared among separate evolutionary origins of stem succulent and storage root-bearing growth habits in *Adenia* (Passifloraceae). *American Journal of Botany*, **96**: 1941–1956.

Hebert PDN, Ratnasingham S, de Waard JR (2003a) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **270**: S96–S99.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003b) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **270**: 313–321.

Hedges SB, Kumar S (2009) Discovering the timetree of life. In: Hedges SB, Kumar S, editors. *The timetree of life*. Oxford University Press, New York, U.S.A.

Heled J, Drummond AJ (2010) Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Molecular biology and evolution*, **27**: 570–580.

Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, **25**: 1965–1978.

Ho SYW (2007) Calibrating molecular estimates of substitution rates and divergence times in birds. *Journal of Avian Biology*, **38**: 409–414.

Ho SYW, Saarma U, Barnett R, Haile J, Shapiro B (2008) The effect of inappropriate calibration: three case studies in molecular ecology. *PLoS One*, **3**: e1615.

Horn JW, van Ee BW, Morawetz JJ, Riina R, Steinmann VW, et al. (2012) Phylogenetics and the evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). *Molecular phylogenetics and evolution*, **63**: 305–326.

Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, **17**: 754–755.

Inoue J, Donoghue PCJ, Yang Z (2010) The impact of the representation of fossil calibrations on Bayesian estimation of species divergence times. *Systematic Biology*, **59**: 74–89.

Ishikawa M, Gusta LW (1996) Freezing and heat tolerance of *Opuntia* cacti native to the Canadian prairie provinces. *Revue canadienne de botanique*, **74**: 1890–1895.

IUCN (2001) *IUCN Red List Categories and Criteria, Version 3.1*. IUCN, Gland, Switzerland & Cambridge.

Jeanson ML, Labat JN, Little DP (2011) DNA barcoding: a new tool for palm taxonomists? *Annals of Botany*, **108**: 1445–1451.

Johnson RN (2010) The use of DNA identification in prosecuting wildlife-traffickers in Australia: do the penalties fit the crimes? *Forensic science, medicine, and pathology*, **6**: 211–216.

Jumelle HL (1905a) Une nouvelle euphorbe à caoutchouc. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, **140**: 1047–1049.

Jumelle HL (1905b) Deux nouvelles plantes à caoutchouc de Madagascar. *Le Caoutchouc & la Gutta-Percha*, **3**: 207–210.

Jussieu A (1789) *Genera plantarum*. Herissant and Barrois, Paris, France.

Katoh K, Misawa K, Kuma K-ichi, Miyata T (2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic acids research*, **30**: 3059–3066.

Katoh K, Kuma K-ichi, Toh H, Miyata T (2005) MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment. *Nucleic acids research*, **33**: 511–518.

Kelchner SA, Wendel JF (1996) Hairpins create minute inversions in non-coding regions of chloroplast DNA. *Current Genetics*, **30**: 259–262.

Kim KJ, Lee HL (2005) Widespread occurrence of small inversions in the chloroplast genomes of land plants. *Molecules and Cells*, **19**: 104–113.

Klotzsch JF, Garcke CAF (1860) Hr. Klotzsch las über Linné's natürlich Pflanzenklasse Tricoccae des Berliner Herbarium's im Allgemeinen und die nattirliche Ordnung Euphorbiaceae insbesondere. Monatsber. Konigl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin, Germany.

Kluge AG (1989). A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology*, **38**: 7–25.

Kress WJ, Wurdack KJ, Zimmer EA, Weigt LA, Janzen DH (2005) Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**: 8369–8374.

Kulju KKM, Sierra SEC, Draisma SGA, Samuel R, van Welzen PC (2007) Molecular phylogeny of *Macaranga*, *Mallotus*, and related genera (Euphorbiaceae s.s.): insights from plastid and nuclear DNA sequence data. *American Journal of Botany*, **94**: 1726–1743.

Kull CA (2000) Deforestation, Erosion, and Fire: Degradation Myths in the Environmental History of Madagascar. *Environment and History*, **6**: 423–450.

Kumar L, Skidmore AK, Knowles E (1997) Modelling topographic variation in solar radiation in a GIS environment. *International Journal of Geographical Information Science*, **11**: 475–497.

Kumar S (2005) Molecular clocks: four decades of evolution. *Nature Reviews Genetics*, **6**: 654–662.

Lahaye R, Van Der Bank M, Bogarin D, Warner J, Pupulin F, et al. (2008) DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**: 2923–2928.

Lamarck JBPAM de (1786) Euphorbe ou Tithymale, *Euphorbia*, Caractère Générique, *Encyclopédie méthodique, Botanique, tome trois*. Paris et Plomteux, Liège, France.

Lamarck JBPAM de (1788) *Encyclopédie méthodique, Botanique, tome second*. C.J. Panckoucke, Liège, France.

Leandri JD (1945) Contribution à l'étude des Euphorbiacées de Madagascar. IX. Groupe de l'*Euphorbia pyrifolia* et observations sur la section *Goniostema*. *Notulae Systematicae*, **12**: 64–79.

Leandri JD (1946) Contribution à l'étude des Euphorbiacées de Madagascar. X. Euphorbes du groupe *Diacanthium*. *Notulae Systematicae*, **12**: 156–170.

Leandri JD (1947) Contribution à l'étude des Euphorbiacées de Madagascar. XI. Euphorbes de la section *Anisophyllum*. *Notulae Systematicae*, **13**: 110–118.

Leandri JD (1952-53) Les Euphorbes épineuses et coralliformes de Madagascar. *Cactus*, **7**: 1–6, 39–44, 95–100, 109–115 (1952), 141–146 (1953).

Leandri JD (1956) Euphorbiacées malgaches nouvelles récoltées par M. R. Capuron. *Bulletin de la Société Botanique de France*, **103**: 604–608.

Leandri JD (1957) *Euphorbia mandravioky*, *nom. nov.*, et un nom nouveau pour une sous-section du genre euphorbe. *Bulletin de la Société Botanique de France*, **104**: 499–501.

Lewis PO (2001) A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Systematic Biology*, **50**: 913–925.

Li M, Wunder J, Bissoli G, Scarponi E, Gazzani S, et al. (2008) Development of COS genes as universally amplifiable markers for phylogenetic reconstructions of closely related plant species. *Cladistics*, **24**: 727–745.

Linnaeus C (1753) *Species plantarum*. L. Salvius, Stockholm, Sweden.

Little DP (2010) A unified index of sequence quality and contig overlap for DNA barcoding. *Bioinformatics*, **26**: 2780–2781.

Mabberley DJ (2008) *Mabberley's Plant-Book*, ed. 3. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Mangenot G (1969) Réflexions sur les types biologiques des plantes vasculaires. *Candollea*, **24** : 279–294.

Mattern MY, McLennan DA (2004) Total evidence phylogeny of Gasterosteidae: combining molecular, morphological and behavioral data. *Cladistics*, **20**: 14–22.

McAuliffe JR (1994) Landscape evolution, soil formation and ecological patterns and processes in Sonoran Desert bajadas. *Ecological Monographs*, **64**: 111–148.

McLoughlin S (2001) The breakup history of Gondwana and its impact on pre-Cenozoic floristic provincialism. *Australian Journal of Botany*, **49**: 271–300.

McNeill J, Barrie FR, Burdet HM, Demoulin V, Hawksworth DL, et al. (eds 2006) International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code). Adopted by the Seventeenth International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005. *Regnum Vegetabile*, **146**: 1–568.

Medel-Narvaez A, Leon de la Luz JL, Freaner-Martinez F, Molina-Freaner F (2006) Patterns of abundance and population structure of *Pachycereus pringlei* (Cactaceae), a columnar cactus of the Sonoran Desert. *Plant Ecology*, **187**: 1–14.

Meier R, Shiyang K, Vaidya G, Ng PKL (2006) DNA barcoding and taxonomy in *Diptera*: a tale of high intraspecific variability and low identification success. *Systematic Biology*, **55**: 715–728.

Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for Inference of Large Phylogenetic Trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop*, 1–8.

Moat J, Smith P (2007) *Atlas of the Vegetation of Madagascar*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

Molero J, Garnatje T, Rovira A, Garcia-Jacas N, Susanna A (2002) Karyological evolution and molecular phylogeny in Macaronesian dendroid spurges (*Euphorbia* subsect. *Pachycladae*). *Plant Systematics and Evolution*, **231**: 109–132.

Moore BR, Donoghue MJ (2007) Correlates of diversification in the plant clade Dipsacales: Geographic movement and evolutionary innovations. *American Naturalist*, **170**: S29-S55.

Müller K (2006) Incorporating information from length-mutational events into phylogenetic analysis. *Molecular phylogenetics and evolution*, **38**: 667–676.

Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**: 853–858.

Necker JD (1970) *Elementa botanica*. Neowedae ad Rhenum, Neuwied, Germany.

Nee S, May RM, Harvey PH (1994) The reconstructed evolutionary process. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **344**: 305–311.

Nee S (2006) Birth-death models in macroevolution. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **37**: 1–17.

Newmaster S, Fazekas A, Steeves R, Janovec J (2008) Testing candidate plant barcode regions in the Myristicaceae. *Molecular Ecology Resources*, **8**: 480–490.

Niklas KJ (1997) *The evolutionary biology of plants*. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois, U. S A.

Nobel PS (1980) Morphology, surface temperatures, and northern limits of columnar cacti in the Sonoran Desert. *Ecology*, **61**: 1–7.

Nobel PS (1983) *Biophysical plant physiology and ecology*. W. H. Freeman and Co., San Francisco, California, U.S.A.

Nobel PS (1988) *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge University Press, New York, New York, U.S.A.

Nuin PAS, Wang Z, Tillier ERM (2006) The accuracy of several multiple sequence alignment programs for proteins. *BMC bioinformatics*, **7**: 471.

Nylander JAA (2004) MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Sweden.

Ober KA, Heider TN (2010) Phylogenetic diversification patterns and divergence times in ground beetles (*Coleoptera*: Carabidae: Harpalinae). *BMC evolutionary biology*, **10**: 262.

Ogden R, Dawnay N, McEwing R (2009) Wildlife DNA forensics—bridging the gap between conservation genetics and law enforcement. *Endangered Species Research*, **9**: 179–195.

Oh SH, Potter D (2003) Phylogenetic utility of the second intron of *LEAFY* in *Neillia* and *Stephanandra* (Rosaceae) and implications for the origin of *Stephanandra*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **29**: 203–215.

Olsen KM, Schaal BA (1999) Evidence on the origin of cassava: phylogeography of *Manihot esculenta*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**: 5586–5591.

Olson ME, Carlquist S (2001) Stem and root anatomical correlations with life form diversity, ecology, and systematics in *Moringa* (Moringaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, **135**: 315–348.

Pagel M (1994) Detecting correlated evolution on phylogenies: A general method for the comparative analysis of discrete characters. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **255**: 37–45.

Pahlevani A, Riina R (2011) A synopsis of *Euphorbia* subgen. *Chamaesyce* (Euphorbiaceae) in Iran. *Annales Botanici Fennici*, **48**: 304–316.

Pahlevani A, Geltman D, Riina R (2011) Taxonomic revision of *Euphorbia* subsect. *Myrsiniteae* in Iran. *Annales Botanici Fennici*, **48**: 483–493.

Paradis E, Claude J, Strimmer K (2004) APE: Analyses of Phylogenetics and Evolution in R language. *Bioinformatics*, **20**: 289–290.

Park KR, Jansen RK (2007) A phylogeny of Euphorbieae subtribe Euphorbiinae (Euphorbiaceae) based on molecular data. *Journal of Plant Biology*, **50**: 644–649.

Parveen I, Singh HK, Raghuvanshi S, Pradhan UC, Babbar SB (2012) DNA barcoding of endangered Indian *Paphiopedilum* species. *Molecular Ecology Resources*, **12**: 82–90.

Pate JS, Dixon KW (1981) Plants with fleshy underground storage organs – a Western Australian survey. In Pate JS & McComb AJ (eds.) *The biology of Australian plants*. University of Western Australia Press, Nedlands, Australia.

Pax FA, Hoffmann K (1931) Euphorbiaceae. In A. Engler and K. Prantl [eds.], *Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten, insbesondere den Nutzpflanzen*, 11–251. W. Engelmann, Leipzig, Germany.

Payer JB (1857) *Traité d'organogénie comparée de la fleur*. V. Masson, Paris, France.

Perret M, Chautems A, Spichiger R, Kite G, Savolainen V (2003) Systematics and evolution of tribe Sinningieae (Gesneriaceae): evidence from phylogenetic analysis of six plastid DNA regions and nuclear ncpGS. *American Journal of Botany*, **90**: 445–460.

Pierson EA, Turner RM (1998) An 85-year study of saguaro (*Carnegiea gigantea*) demography. *Ecology*, **79**: 2676–2693.

Poisson HL, Pax FA (1902) Sur trois espèces cactiformes d'Euphorbes de la côte occidentale d'Afrique. *Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle*, **8**: 60.

Prenner G, Rudall PJ (2007) Comparative ontogeny of the cyathium in *Euphorbia* (Euphorbiaceae) and its allies: exploring the organ–flower–inflorescence boundary. *American journal of botany*, **94**: 1612–1629.

Purvis A (2008) Phylogenetic approaches to the study of extinction. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **39**: 301–319.

Pybus OG, Harvey PH (2000) Testing macro-evolutionary models using incomplete molecular phylogenies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **267**: 2267–2272.

Rabosky DL (2006a) LASER: a maximum likelihood toolkit for detecting temporal shifts in diversification rates from molecular phylogenies. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **2**: 247–250.

Rabosky DL (2006b) Likelihood methods for detecting temporal shifts in diversification rates. *Evolution*, **60**: 1152–1164.

Rabosky DL (2010) Extinction rates should not be estimated from molecular phylogenies. *Evolution*, **64**: 1816–1824.

Rabosky DL, Donnellan SC, Talaba AL, Lovette IJ (2007) Exceptional among-lineage variation in diversification rates during the radiation of Australia’s most diverse vertebrate clade. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **274**: 2915–2923.

Rabosky DL, Lovette IJ (2008) Density-dependent diversification in North American wood warblers. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **275**: 2363–2371.

Rabosky DL, Lovette IJ (2009) Problems detecting density-dependent diversification on phylogenies: reply to Bokma. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **276**: 995–997.

Rafinesque CS (1836) *Flora Telluriana 2*. Rafinesque (self published), Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A.

Rambaut A, Drummond AJ (2007) Tracer v1.4. Available from: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer> (accessed: 5 October 2012).

Rauh W (1995) Succulent and Xerophytic Plants of Madagascar. Volume One. Strawberry Press, Mill Valley, California, U.S.A.

Rauh W (1996) *Euphorbia pachysantha* Baillon, a remarkable and little-known arborescent *Euphorbia* from Madagascar. *Cactus and succulent journal*, **68**: 35–39.

Rauh W (1998) Succulent and Xerophytic Plants of Madagascar. Volume Two. Strawberry Press, Mill Valley, California, U.S.A.

Rauh W, Bardot-Vaucoulon M (1999) Deux nouvelles Euphorbes du Massif de l'Ankarana, au nord-ouest de Madagascar : *Euphorbia ambarivatoensis* Rauh & Bardot-Vaucoulon spec. nova et *Euphorbia martinae* Rauh spec. nova. *Succulentes*, **22**: 3–12.

Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE (1986) Biology of Plants, Fourth Edition. Worth Publishers, New York, New York, U. S. A.

R Development Core Team (2008) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Available from: <http://www.R-project.org>. (accessed: 15 October 2012)

Rebmann N (2007) Les Euphorbes de Madagascar. *Succulentes*, Special Issue.

Rieseberg LH, Whitton J, Linder CR (1996) Molecular marker incongruence in plant hybrid zones and phylogenetic trees. *Acta Botanica Neerlandica*, **45**: 243–262.

Rokas A, Williams BL, King N, Carroll SB (2003) Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies. *Nature*, **425**: 798–804.

Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, **19**: 1572–1574.

Rowley GD (1980) Name that succulent. Keys to the families and genera of succulent plants in cultivation. Stanley Thornes (Publishers) Ltd., Cheltenham, UK.

Samuel R, Kathriarachchi H, Hoffmann P, Barfuss MHJ, Wurdack KJ, et al. (2005) Molecular phylogenetics of Phyllanthaceae: Evidence from plastid *matK* and nuclear *PHYC* sequences. *American Journal of Botany*, **92**: 132–141.

Sang T, Crawford D, Stuessy TF (1997) Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany*, **84**: 1120–1136.

Sang T (2002) Utility of low-copy nuclear gene sequences in plant phylogenetics. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, **37**: 121–147.

Santini F, Harmon LJ, Carnevale G, Alfaro ME (2009) Did genome duplication drive the origin of teleosts? A comparative study of diversification in ray-finned fishes. *BMC evolutionary biology*, **9**: 194.

Sass C, Little DP, Stevenson DW, Specht CD (2007) DNA Barcoding in the Cycadales: testing the potential of proposed barcoding markers for species identification of Cycads. *PLoS ONE*, **2**: e1154.

Sauquet H, Ho SYW, Gandolfo MA, Jordan GJ, Wilf P, et al. (2012) Testing the impact of calibration on molecular divergence times using a fossil-rich group: the case of *Nothofagus* (Fagales). *Systematic biology*, **61**: 289–313.

Savolainen V, Chase MW, Hoot SB, Morton CM, Soltis DE, et al. (2000) Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* gene sequences. *Systematic biology*, **49**: 306–362.

Schatz GE, Lescot M (2005) *Gazetteer to Malagasy Botanical Collecting Localities*. Available from: <http://www.mobot.org/mobot/research/madagascar/gazetteer/> (accessed: 3 February 2012).

Schweizer M, Seehausen O, Hertwig ST (2011) Macroevolutionary patterns in the diversification of parrots: effects of climate change, geological events and key innovations. *Journal of Biogeography*, **38**: 2176–2194.

Schwinnig S, Ehleringer JR (2001) Water use trade-offs and optimal adaptations to pulse-driven arid ecosystems. *Journal of Ecology*, **89**: 464–480.

Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL (2007) Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, **94**: 275–288.

Shreve F (1911) The influence of low temperatures on the distribution of the giant cactus. *Plant World*, **14**: 136–146.

Siddall ME, Kluge AJ (1997) Probabilism and phylogenetic inference. *Cladistics*, **13**: 313–336.

Simmons MP, Ochoterena H (2000) Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic biology*, **49**: 369–381.

Small RL, Wendel JF (2000) Copy number lability and evolutionary dynamics of the *Adh* gene family in diploid and tetraploid cotton (*Gossypium*). *Genetics*, **155**: 1913–1926.

Small RL, Cronn RC, Wendel JF (2002) L. A. S. JOHNSON REVIEW No. 2 Use of nuclear genes for phylogeny reconstruction in plants. *Australian Systematic Botany*, **17**: 145–170.

Stearns SC, Hoekstra RF (2005) *Evolution: an introduction*. Ed. 2. Oxford University Press, Oxford, UK.

Steenbergh WF, Lowe CH (1977) Ecology of the saguaro. II. Reproduction, germination, establishment, growth, and survival of the young plant. Scientific Monograph Series 8. National Park Service, Washington, D.C., U.S.A.

Steinmann VW (2001) The evolution of succulence in the new world species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae). Ph.D. dissertation. Claremont Graduate University, Claremont, California, U.S.A.

Steinmann VW, Porter M (2002) Phylogenetic relationships in Euphorbieae (Euphorbiaceae) based on ITS and *ndhF* sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **89**: 453–490.

Steinmann VW (2003) The submersion of *pedilanthus* into *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Acta Botanica Mexicana*, **65**: 45–50.

Steinmann VW, Van Ee B, Berry PE, Gutiérrez J (2007) The systematic position of *Cubanthus* and other shrubby endemic species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in Cuba. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, **64**: 123–133.

Stevens PF (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012. Available from: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (accessed: 11 October 2012).

Stockley B, Smith AB, Littlewood T, Lessios HA, Mackenzie-Dodds JA (2005) Phylogenetic relationships of spatangoid sea urchins (*Echinoidea*): taxon sampling density and congruence between morphological and molecular estimates. *Zoologica scripta*, **34**: 447–468.

Strand AE, Leebens-Mack J, Milligan BG (1997) Nuclear DNA-based markers for plant evolutionary biology. *Molecular ecology*, **6**: 113–118.

Su YCF, Saunders RMK (2009) Evolutionary divergence times in the Annonaceae: evidence of a late Miocene origin of *Pseuduvaria* in Sundaland with subsequent diversification in New Guinea. *BMC evolutionary biology*, **9**: 153.

Sukumaran J, Holder MT (2010) DendroPy: a Python library for phylogenetic computing. *Bioinformatics*, **26**: 1569–1571.

Swenson U, Lowry II PP, Munzinger J, Rydin C, Bartish IV (2008) Phylogeny and generic limits in the *Niemeyera* complex of New Caledonian Sapotaceae: evidence of multiple origins of the anisomerous flower. *Molecular phylogenetics and evolution*, **49**: 909–929.

Swofford DL (1998) PAUP* 4.0b9: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods), beta version. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, U.S.A.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, et al. (2011) MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, **28**: 2731–2739.

Tank DC, Sang T (2001) Phylogenetic utility of the glycerol-3-phosphate acyltransferase gene: evolution and implications in *Paeonia* (Paeoniaceae). *Molecular phylogenetics and evolution*, **19**: 421–429.

Tate JA, Simpson BB (2003) Paraphyly of *Tarasa* (Malvaceae) and diverse origins of the polyploid species. *Systematic Botany*, **28**: 723–737.

Thioulouse J, Chessel D, Dolédec S, Olivier JM (1997) ADE4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing*, **7**: 75–83.

Thuiller W, Lavorel S, Midgley G, Lavergne S, Rebelo T (2004) Relating plant traits and species distributions along bioclimatic gradients for 88 *Leucadendron* taxa. *Ecology*, **85**: 1688–1699.

Uhlarz H (1974) Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen zur Morphologie der basalen Blatteffigurationen sukkulenter Euphorbien aus den Subsektionen *Diacanthium* Boiss. und *Goniostema* Baill. *Tropische und subtropische Pflanzenwelt*, **9**: 575–639.

Ung V, Dubus G, Zaragüeta-Bagils R, Vignes-Lebbe R (2010) Xper²: introducing e-Taxonomy. *Bioinformatics*, **26**: 703–704.

Ursch E, Leandri JD (1954) Les euphorbes malgaches épineuses et charnues du Jardin botanique de Tsimbazaza. *Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale*, **5**: 109–186.

Vaidya G, Lohman DJ, Meier R (2011) SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. *Cladistics*, **27**: 171–180.

Valentini A, Pompanon F, Taberlet P (2009) DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology & Evolution*, **24**: 110–117.

van der Niet T, Linder HP (2008) Dealing with incongruence in the quest for the species tree: a case study from the orchid genus *Satyrium*. *Molecular phylogenetics and evolution*, **47**: 154–74.

Vernooy R, Haribabu E, Muller MR, Vogel JH, Hebert PDN, et al. (2010) Barcoding life to conserve biological diversity: beyond the taxonomic imperative. *PLoS Biology*, **8**: e1000417.

von Willert DJ, Eller BM, Werger MJA, Brinckmann E (1990) Desert succulents and their life strategies. *Vegetatio*, **90**: 133–144.

Vriesendorp B, Bakker FT (2005) Reconstructing patterns of reticulate evolution in angiosperms: what can we do? *Taxon*, **54**: 593–604.

Wang ZY, Fritsch PW, Shi S, Almeda F, Cruz BC, et al. (2004) Phylogeny and infrageneric classification of *Symplocos* (Symplocaceae) inferred from DNA sequence data. *American Journal of Botany*, **91**: 1901–1914.

Webster GL (1967) The genera of Euphorbiaceae in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, **48**: 303–361, 363–430.

Webster GL (1975) Conspectus of a new classification of the Euphorbiaceae. *Taxon*, **24**: 593–601.

- Webster GL (1987) The saga of the spurges: A review of classification and relationships in the Euphorbiales. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **94**: 3–46.
- Webster GL (1994) Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **81**: 33–144.
- Wheeler LC (1943) The genera of the living Euphorbiae. *American Midland Naturalist*, **30**: 456–503.
- White TJ, Bruns TD, Lee S, Taylor JW (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White T. eds. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, CA, U.S.A.
- Whitlock BA, Hale AM, Groff PA (2010) Intraspecific inversions pose a challenge for the *trnH-psbA* plant DNA barcode. *PLoS ONE*, **5**: e11533.
- Wiens JJ, Hollingsworth BD (2000) War of the Iguanas: conflicting molecular and morphological phylogenies and long-branch attraction in Iguanid lizards. *Systematic Biology*, **49**: 143–159.
- Wikström N, Savolainen V, Chase MW (2001) Evolution of the angiosperms: Calibrating the family tree. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **268**: 2211–2220.
- Wilm A, Mainz I, Steger G (2006) An enhanced RNA alignment benchmark for sequence alignment programs. *Algorithms for molecular biology*, **1**: 19.
- Won H, Renner SS (2003) Horizontal gene transfer from flowering plants to *Gnetum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**: 10824–10829.
- Wurdack KJ, Hoffmann P, Chase MW (2005) Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae sensu stricto) using plastid *rbcL* and *trnL-F* DNA sequences. *American Journal of Botany*, **92**: 1397–1420.

Yang Y, Berry PE (2011) Phylogenetics of the *Chamaesyce* clade (*Euphorbia*, Euphorbiaceae): Reticulate evolution and long-distance dispersal in a prominent C4 lineage. *American Journal of Botany*, **98**: 1486–1503.

Yang Y, Riina R, Morawetz JJ, Haevermans T, Aubriot X, et al. (2012) Molecular phylogenetics and classification of *Euphorbia* subgenus *Chamaesyce*. *Taxon*, **61**: 764–789

Yesson C, Bárcenas RT, Hernández HM, De La Luz Ruiz-Maqueda M, Prado A, et al. (2011) DNA barcodes for Mexican Cactaceae, plants under pressure from wild collecting. *Molecular Ecology Resources*, **11**: 775–783.

Yoder AD, Irwin JA, Payseur BA (2001) Failure of the ILD to determine data combinability for slow loris phylogeny. *Systematic Biology*, **50**: 408–424.

Yule GU (1925) A Mathematical Theory of Evolution, Based on the Conclusions of Dr. J. C. Willis, F.R.S. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **213**: 21–87.

Zimmermann NFA, Ritz CM, Hellwig FH (2010) Further support for the phylogenetic relationships within *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) from nrITS and *trnL-trnF* IGS sequence data. *Plant Systematics and Evolution*, **286**: 39–58.

Zwickl DJ (2006) Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. Ph.D. dissertation. The University of Texas, Austin, U.S.A.

Annexes

Annexes du Chapitre 1

Annexe I.1. : Phylogenetics, morphological evolution, and classification of *Euphorbia* subgenus. *Euphorbia* ; Dorsey BL, Haevermans T, **Aubriot X**, Morawetz J, Riina R, Steinmann VW, Berry PE ; *Taxon*, sous presse.

Annexe I.2. : Molecular phylogenetics and classification of *Euphorbia* subgenus *Chamaesyce* (Euphorbiaceae) ; Yang Y, Riina R, Morawetz JJ, Haevermans T, **Aubriot X**, Berry PE ; *Taxon* **61** (2012).

Annexe I.3. : Chaos revisited: nomenclature and typification of the Malagasy endemic *Euphorbia* subgenus *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert ; Haevermans T, Rouhan G, Hettterscheid W, Tessier M, Belarbi K, **Aubriot X**, Labat JN ; *Adansonia* **31** (2009).

Annexes du Chapitre 2

Annexe II.1. : Tableau récapitulatif des 19 paramètres bioclimatiques utilisés pour les analyses de modélisation et d'évolution de niches écologiques.

Annexe II.2. : Banque d'extraits d'euphorbes constituée à ce jour ; *disponible sous format numérique, voir CD ci-joint.*

Annexes du Chapitre 4

Appendix S1, Supporting Information : Primer identities, sequences and source for the three chloroplast loci and nuclear ITS used for PCR and sequencing in this study ; *disponible sous format numérique, voir CD ci-joint.*

Appendix S2, Supporting Information : Details of voucher specimens along with GenBank accession numbers for individual loci ; *disponible sous format numérique, voir CD ci-joint.*

Annexes du Chapitre 5

Annexe V.1. : Liste des échantillons séquencés pour les 8 régions de l'ADN qui ont servi à reconstruire la topologie du clade GDD.

Annexe V.2. : Topologies consensus obtenues avec chacun des marqueurs pour les algorithmes de ML (Garli) et d'IB (MrBayes et Beast) ; *disponible sous format numérique, voir CD ci-joint.*

Annexes du Chapitre 7

Supplementary Figure 1 : Circular phylogeny showing the distribution of the 67 samples selected for trait analyses, from a total of 279 samples available.

Supplementary Figure 2 : Comparison of PCA and OMI.

Supplementary Table 1 : Complete listing of the *Euphorbia* species included in this study.

Annexes du Chapitre 1

Annexe I.1.

Phylogenetics, morphological evolution, and classification of *Euphorbia* subgenus *Euphorbia*

Brian L. Dorsey, Thomas Haevermans, Xavier Aubriot, Jeffery Morawetz,

Ricarda Riina, Victor W. Steinmann and Paul E. Berry

Taxon, in press.

Phylogenetics, morphological evolution, and classification of *Euphorbia* subgenus *Euphorbia*

Brian L. Dorsey¹, Thomas Haevermans², Xavier Aubriot², Jeffery Morawetz⁴, Ricarda Riina⁵, Victor W. Steinmann⁶ and Paul E. Berry^{1,3}

1 *Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Michigan, Ann Arbor. 830 North University Avenue, Ann Arbor, MI 48109-1048 USA*

2 *Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Systématique et Evolution, UMR 7205 CNRS/MNH Origine, Structure et Evolution de la Biodiversité, CP 39, 57 rue Cuvier, 75231 Paris cedex 05, France*

3 *University of Michigan Herbarium, Department of Ecology and Evolutionary Biology, 3600 Varsity Drive, Ann Arbor, Michigan 48108, U.S.A.*

4 *Rancho Santa Ana Botanic Garden, 1500 N. College Ave, Claremont, CA 91711, USA*

5 *Real Jardín Botánico, CSIC, Plaza de Murillo 2, Madrid 28014, Spain*

6 *Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, A.P. 386, 61600 Pátzcuaro, Michoacán, Mexico*

Author for correspondence: *Brian L. Dorsey, bdorsey@umich.edu*

Abstract *Euphorbia* subg. *Euphorbia* is the largest and most diverse of four recently recognized subgenera within *Euphorbia* and is distributed throughout the tropics and subtropics. Relationships within this group have been difficult to discern due mainly to homoplasious morphological characters and inadequate taxon sampling in previous phylogenetic studies. Here we present a phylogenetic analysis of subg. *Euphorbia*, using one nuclear and two chloroplast regions for the most complete sampling of molecular sequence data to date. We show that the approximately 661 species in the subgenus belong to four highly-supported main clades, including a well-supported monophyletic New World clade and multiple independent lineages on Madagascar. Using this phylogenetic framework we discuss patterns of homoplasy in morphological evolution and general patterns of biogeography. Finally we present a new subgeneric classification of subg. *Euphorbia* comprising 21 sections, nine of them newly described here.

Keywords: *Euphorbia* subgenus *Euphorbia*, Euphorbiaceae, growth forms, Madagascar, New World, sectional classification

Running head: Phylogenetics of *Euphorbia* subgenus *Euphorbia*

INTRODUCTION

Euphorbia is one of the largest recognized genera of flowering plants with about 2,000 species. It has a worldwide distribution but is especially diverse in tropical and subtropical parts of both the New and Old Worlds, in arid or semiarid habitats, and also in temperate Eurasia. The morphological diversity in this genus includes geophytes, herbs, shrubs, understory and canopy trees, and an array of succulent and xerophytic forms as well. Despite

this vast vegetative variation, the entire genus is united by a distinctive morphological synapomorphy, the cyathium – a pseudanthial inflorescence that looks superficially like a typical dicot flower (Steinmann & Porter, 2002; Horn & al., 2012). This structure is intermediate between a flower and an inflorescence in developmental terms (Prenner & Rudall, 2007) and is comprised of a cup-like involucre that surrounds multiple male flowers (reduced to single stamens) and a single female flower (reduced to a single pistil). From this basic structure various elaborations have evolved, including colorful subtending bracts, cyathial nectary glands with petaloid appendages, and fusion or increase in the number of cyathial glands. Some of these cyathial traits represent synapomorphies for particular clades within the genus. Despite the information provided by the cyathium and its variations, relationships among species within *Euphorbia* have been notoriously difficult to infer based on analyses of most morphological characters.

Previous phylogenetic work based on DNA sequence data suggests that the evolution of many characters in *Euphorbia* including growth form, photosynthetic systems, and cyathial form are highly homoplasious, and that the genus has a complex biogeographic history leading to its nearly world-wide distribution (Steinmann & Porter, 2002; Haevermans & al., 2004; Bruyns & al., 2006; Park & Jansen, 2007; Horn & al., 2012; Yang & al., submitted). These evolutionary and biogeographic patterns make *Euphorbia* an ideal system for the study of complex character evolution and adaptation of plants to different environments. Establishing a well-resolved phylogenetic framework is a prerequisite to this research, and at 150 years since the last comprehensive taxonomic treatment of *Euphorbia* (Euphorbiaceae) by Boissier (1862), the evolutionary relationships within the genus have only recently begun to be resolved.

Over the past decade, molecular phylogenetic studies have made much progress in understanding the broadscale relationships within *Euphorbia* (Steinmann & Porter, 2002; Bruyns & al., 2006; Park & Jansen, 2007; Horn & al., 2012; Yang & al., submitted). Steinmann & Porter (2002) circumscribed *Euphorbia* as the clade including all species with cyathia, and they furthermore established the presence of four major clades within the genus. Bruyns et al. (2006) formally recognized these four main clades as subgenera: *E.* subg. *Esula* Pers, *E.* subg. *Rhizanthium* (Boiss.) Wheeler, *E.* subg. *Chamaesyce* Raf., and *E.* subg. *Euphorbia*. Horn et al. (2012) analyzed ten gene regions from all three plant genomes to firmly establish that subg. *Esula* is the first clade to diverge, followed by subg. *Rhizanthium*, which is sister in turn to the clade of subg. *Chamaesyce* and subg. *Euphorbia*. With the relatively sparse taxon sampling in all previous phylogenetic studies, many species in *Euphorbia* have not been placed to their corresponding subgenus, and relationships within the subgenera are still very incompletely resolved. From an evolutionary and taxonomic standpoint, there is a need to develop a comprehensive sectional classification for each of the subgenera. In this study we attempt to resolve these issues in subg. *Euphorbia*, which is the largest subgenus in *Euphorbia*.

Euphorbia subg. *Euphorbia* contains approximately 700 species, and it is the most diverse of the four subgenera in terms of cyathial variation, growth form, and habitat (Horn & al., 2012). Variation in cyathial morphology in this subgenus is particularly high and has been the basis for recognizing five segregate genera in the past. These segregates include sect. *Monadenium* (= former genera *Monadenium* Pax + *Synadenium* Boiss. + *Endadenium* Leach)

from eastern tropical Africa, sect. *Crepidaria* (= former genus *Pedilanthus* Necker) from Mexico and the Caribbean, and sect. *Cubanthus* (former genus *Cubanthus* (Boiss.) Milspaugh) from the Caribbean. Each of these groups displays a unique variation on the basic cyathial form. Species of subg. *Euphorbia* include herbs, geophytes, woody shrubs, understory and canopy trees, stem succulents that range from dwarf shrubs to candelabriform trees, and the unusual growth form of pencil-stem plants (e.g. *E. tirucalli*) (Fig. 1). Woody shrubs and trees are found in both xeric and mesic forests of Madagascar and in the New World tropics. The herbaceous habit is found in South America, Africa, and Australia. Geophytes have evolved several times in subg. *Euphorbia* and are found in Africa, Madagascar, the Arabian Peninsula, and southern Asia. The spine shield euphorbias of Africa and Asia are often compared to the cacti of the New World as a classic example of convergent evolution, and they are the prime representatives of stem succulents in subg. *Euphorbia*.

Bruyns & al. (2006) proposed a sectional classification for the subgenus based almost entirely on Old World species. Their relatively small taxonomic sampling, however, did not allow for the establishment of a comprehensive phylogenetic hypothesis and classification. Even with an expanded sampling of mostly African and Arabian species from subg. *Euphorbia* (Bruyns et al., 2011), important groups from Madagascar and the New World have yet to be fully represented in a phylogenetic analysis of subg. *Euphorbia* and only by including these can we gain a global understanding of the evolutionary relationships in this complex group.

While our understanding of the evolutionary relationships within subg. *Euphorbia* has improved in recent years, several key questions remain unanswered (Steinmann & Porter, 2002; Bruyns & al., 2006). For example, Steinmann & Porter (2002) showed that subg. *Euphorbia* is a collection of both New World and Old World species and that many previously recognized groups were not monophyletic. Yet, while their ITS data set included the largest sample of New World species to date, these data could not confirm or reject the monophyly of the New World species. The New World species included by Zimmerman & al. (2010) form a grade in their analysis, but the 11 species sampled by Horn & al. (2012) form a clade. The placement of all putative New World members of subgenus *Euphorbia* and whether they represent a single clade or else multiple arrivals to the New World requires further sampling and analysis.

A diverse set of approximately 120 species from Madagascar has also been shown to belong to subgenus *Euphorbia*, but while other Old World groups such as sect. *Euphorbia* and sect. *Monadenium* are fairly well defined, the Madagascan species represent the least understood group of species in subg. *Euphorbia* phylogenetically (Steinmann & Porter, 2002; Haevermans & al., 2004; Bruyns & al., 2006; Park & Jansen, 2007; Zimmermann & al., 2010; Horn & al., 2012). The Madagascan species include, among others, the crown-of-thorns complex (*E. milii* and allies) and coraliform, pencil-stem trees such as *E. tirucalli* and *E. alluaudii*. There have been two clades of Madagascan species resolved in all previous phylogenetic studies including subg. *Euphorbia*, but their relationship to each other has never been well resolved. All of the pencil stem species have previously been placed in one group, sect. *Tirucalli*, (e.g. Boissier, 1862; Hassal, 1977) but there is ample evidence now that this previous circumscription of sect. *Tirucalli* does not represent a monophyletic group (Boissier, 1862; Hassal, 1977; Steinmann & Porter, 2002; Haevermans, 2003; Haevermans & al., 2004;

Bruyns & al., 2006; Barres & al., 2011; Horn & al., 2012; Yang & al., submitted). Also, there are a number of poorly-studied leafy species, such as *E. pervilleana* from Madagascar, which have been placed in sect. *Tirucalli* by Bruyns & al. (2006), but are likely part of a separate clade (Haevermans & Labat, 2004). Because the position of these species within subg. *Euphorbia* has not been congruent among previous studies, we still do not know if the Madagascan species form a single clade or else represent two independent radiations on the island.

As part of a broader Planetary Biodiversity Inventory (PBI) study of the genus *Euphorbia* (euphorbiaceae.org), the goals of this study are to 1) produce a phylogenetic hypothesis of the relationships of all major groups in subg. *Euphorbia* based on a thorough taxonomic and geographic sampling and utilizing multiple regions of DNA sequence data, and 2) establish the phylogenetic position of as many members of subg. *Euphorbia* as possible and create a sectional classification system for the subgenus. With this phylogenetic framework we hope to determine if the New World species form a monophyletic group, resolve the relationships of the Madagascan species, and begin to improve our understanding of morphological evolution in subg. *Euphorbia*.

MATERIALS AND METHODS

Taxonomic and molecular sampling. — A total of 374 accessions representing 268 species of *Euphorbia* were analyzed in this study, including 46 outgroup species representing the three other subgenera within the genus. Taxa were selected to obtain a broad and thorough sampling of putative members of subgenus *Euphorbia* across its geographic range based on previous molecular phylogenetic studies and the collective knowledge of the collaborators within the *Euphorbia* PBI project. Material for DNA extraction was collected by the authors and additional PBI collaborators from live plants in the field, from plants at Arid Lands Greenhouses (Tucson, AZ), and from herbarium collections (Appendix 1). Live tissue was preserved in silica gel prior to extraction. Vouchers of wild specimens were collected as whole or partial plants and deposited at MICH and/or local herbaria (see Appendix 1). Greenhouse specimens were documented with digital photographs because destructive sampling was not practical at a commercial greenhouse. In this case, herbarium specimens were made using a set of printed photographs from each sampled specimen.

DNA extraction, amplification, and sequencing. — Total genomic DNA was extracted using the DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN Inc., Valencia, California, USA) following the manufacturer's instructions with slight modification for herbarium material. Primer pairs were chosen for this study based on their previous utility in phylogenetic studies of *Euphorbia* or preliminary tests for polymerase chain reaction (PCR) amplification specificity, phylogenetic information content, and presence of long polyA/T regions that may interrupt sequencing reactions (Steinmann & Porter, 2002; Haevermans & al., 2004; Bruyns & al., 2006; Steinmann & al., 2007). The final regions chosen were the cpDNA coding region *matK* including the partial *trnK* intron, the cpDNA coding region *ndhF*, and the internal transcribed spacer region of the nuclear ribosomal DNA (ITS). All PCR reactions from genomic DNA were carried out using *Ex Taq*TM taq-polymerase and buffer (Takara Bio Inc.,

Otsu, Shiga, Japan). A negative control using nuclease-free water instead of template DNA was included in each PCR reaction to test for contamination.

The *ndhF* gene was PCR amplified in two pieces: the 5' half was amplified using primers 536F and 1318R (Olmstead & Sweere, 1994), and the 3' half using primers 972F (Olmstead & Sweere, 1994) and 2110Ri (Steinmann & Porter, 2002). The 15 µl PCR mixture contained 1.5 µL 10×*Ex Taq*TM Buffer, 1.2 µL dNTP (2.5 mM), 0.4–0.6 µL of each primer (10 µM), 0.075 µL of 5 units/µL *Ex Taq*TM, 2–2.5 µL of diluted template DNA and the remainder of ddH₂O. The PCR protocol consisted of an initial denaturing step of 95°C for 2 min followed by 35 cycles of denaturing at 95°C for 45 s, annealing at 53.8°C for 45 s, extension at 65°C for 3 min and then a final extension step at 65°C for 5 min (modified from Shaw & al., 2005). The *matK* region was amplified using the primers *trnK570F* and *matK1710R* (Samuel & al., 2005). The 15 µl PCR mixture contained 1.5 µL 10×*Ex Taq*TM Buffer, 1.2 µL dNTP (2.5 mM), 0.5 µL of each primer (10 µM), 0.12 µL of 5 units/µL *Ex Taq*TM, 2 µL of diluted template DNA and the remainder of ddH₂O. The PCR protocol consisted of an initial denaturing step of 95°C for 2 min followed by 35 cycles of denaturing at 95°C for 45 s, annealing at 57°C for 45 s, extension at 65°C for 5 min and then a final extension step at 65°C for 10 min (modified from Shaw & al., 2005). The ITS region was amplified using the primers ITS-I (Urbatsch & al., 2000) and ITS4 (White & al., 1990). The 15 µl PCR mixture contained 1.5 µL 10×*Ex Taq*TM Buffer, 1.2 µL dNTP (2.5 mM), 0.5 µl of 5M Betaine solution (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, USA), 0.5 µL of each primer (10 µM), 0.12 µL of 5 units/µL *Ex Taq*TM, 2 µL of diluted template DNA and the remainder of ddH₂O. A “touchdown” PCR protocol was used for the ITS region with an initial denaturing step at 95°C for 2 min and a final extension at 72°C for 15 min. The intervening 35 cycles each had a 2 min denaturing step of 30 s at 95°C and an extension step of 45 s at 72°C. The annealing temperature was decreased from 60°C to 50°C as follows: 1 cycle at 60°C, 2 cycles at 59°C, 3 cycles at 58°C, 4 cycles at 57°C, 5 cycles at 55°C, 6 cycles at 52°C, and 14 cycles at 50°C.

All PCR products were examined by gel electrophoresis on 1% agarose gels and inspected for contamination in the control reaction, amplicon concentration, and multiple bands indicating non-specific amplification. Positive, specific PCR products were purified using ExoSap-IT® (USB Corporation, Cleveland, Ohio, USA). For weak PCR products, or products with primer dimers, the QIAquick PCR Purification Kit was used instead of ExoSap-IT®. All PCR products were sequenced at the University of Michigan DNA Sequencing Core. ITS and *ndhF* PCR products were sequence using the amplification primers. To maximize bidirectional reads for the entire length of the *matK* region the *matK80F* primer (Samuel & al., 2005) and three custom primers [*matK688R* (5'-CRA GAT GRA TGG GRT AMG G-3'), *matK1850R* (CGT CCT CTA TAT AAC TTG CGC G), and *matK1387F* (CAG TAG GAC ATC CTA TTA GTA AAC CG)] in addition to amplification primers were used for sequencing.

DNA sequence alignment and Model of Evolution. — All ABI chromatograms from sequencing were edited and assembled using the Staden software package (Staden, 1996). All sequences are deposited in GenBank, and species names, vouchers, and GenBank accession numbers are given in Appendix 1. Sequences of each region were aligned using the MUSCLE web server at <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle> (Edgar, 2004) and adjusted manually

using the program BioEdit (Hall, 1999). Some regions of the partial *trnK* intron flanking the *matK* gene were difficult to unambiguously align and were excluded from the alignment. In total, seven data matrices were assembled: For the ML analyses all accessions were included to produce matrices for each of the individual regions plus the cpDNA regions concatenated and all regions concatenated (*matK*, *ndhF*, ITS, cpDNA, and 3gene matrices, respectively). A reduced taxon set that minimized missing data was used to construct concatenated matrices of the cpDNA (cpDNA-min) and of all regions (3-gene-min) for the Bayesian analyses (see below). Indels were coded as binary characters for the *matK* and the *ndhF* regions using the simple coding method of Simmons & Ochoterena (2000) as implemented in the program SeqState (Müller, 2005, 2006). The best-fitting model of sequence evolution for each of the 3 individual matrices was selected using Modeltest v. 3.07 (Posada & Crandall, 1998) employing the Akaike Information Criterion (AIC). Modeltest chose the GTR+I+ γ model of nucleotide substitution for all regions and concatenated data sets except *matK*, for which the TVR+I+ γ model was chosen. However, because MrBayes does not allow this model to be specified and to avoid potential parameter interactions by modeling among-site rate variation with two parameters (Moore, B.R., pers. comm.), we used the GTR+ γ model for all analyses.

Phylogenetic Inference. — For analyses of the *matK*, *ndhF*, and all concatenated matrices, separate partitions were defined for character type (DNA or indel), coding/non-coding sequence, codon position and gene region as applicable. Maximum likelihood estimation (MLE) of phylogeny and model parameters was performed using the program RAxML v. 7.2.8 (Stamatakis, 2006). Where applicable, all model parameters except for branch lengths were estimated separately for each partition. Branch lengths were estimated as the average across partitions. Matrices were analyzed using the rapid bootstrap (1000 pseudoreplications) plus thorough MLE search option [-f a]. Bayesian inference (BI) of phylogeny and model parameters was performed on the cpDNA-min and 3-gene-min matrices using MrBayes (Huelsenbeck & Ronquist, 2001; Ronquist & Huelsenbeck). Six independent MCMC runs of 4 chains each were run for 14.8×10^7 generations sampling every 10^4 generations. Stationarity and convergence of the MCMC runs was assessed using the programs Tracer (Rambaut & Drummond, 2007) and AWTY (Wilgenbusch & al., 2004). Preliminary analyses were used to determine the appropriate parameters for the MCMC runs with the following results. To achieve swap frequencies of 20–60% between adjacent heated chains, the temperature parameter was set to 0.02. To prevent unrealistically long tree length estimates, the mean of the prior distribution of tree lengths was adjusted as suggested by Marshall & al. (2010) to a final value of 250 [brlenspr = unconstrained: exponential (250)]. Reduced taxa matrices were used because original matrices failed to converge on a single posterior distribution of tree and model parameters. Recent studies have found that Bayesian analyses can be biased by missing data, potentially due to improper branch length estimation, and this seemed to be the case for concatenated data sets with all taxa included (Marshall & al., 2006; Lemmon, 2009; Marshall, 2010). These matrices contained approximately 30% missing data due to variation in sequencing success for regions among taxa. In preliminary analyses of both the cpDNA matrix and the 3-gene matrix, each with all taxa included, multiple independent runs appeared to converge on a particular log likelihood (LnL) and tree length (TL) distribution while other runs converged on a markedly different distribution of each parameter. In these cases a higher mean LnL was consistently associated with a lower

mean TL. When the proportion of missing data in the matrices was reduced to approximately 10% (including gaps) by removing most taxa without all three regions sequenced, much better performance of the MCMC chains was achieved in terms of chain swap frequencies, mixing of chains, and convergence of all parameters.

Assessment of clade membership. — Morphological and geographic distribution data were compiled from herbarium collections (listed in Appendix 1), live collections, field observations, and the literature for all species included in our molecular data sets as well as any that were previously classified as closely related to these species or suspected to belong in subg. *Euphorbia*. These data were used to determine whether *Euphorbia* species not sampled for molecular sequence data sets belong in subg. *Euphorbia* and to assign these species to clades within the subgenus.

RESULTS

Congruence of individual data sets.— Summary statistics for each dataset are given in Table 1. The *matK* data provided the greatest information across all levels of the subgenus, while *ndhF* was less informative, although it did provide support for major clades. The ITS data provided support for the monophyly of some major clades but provided very little resolution regarding relationships among them and was most informative at the individual clade and species level (Fig. S1). The ML analyses of individual data sets resulted in trees with some topological incongruence but no instances of well-supported conflict between the chloroplast regions (trees not shown) so these were concatenated for the cpDNA analyses. We found nine instances of topological incongruence between the ITS phylogeny and the concatenated cpDNA phylogeny (Figs. S1 and S2) where both of the alternate topologies had bootstrap support (BS) over 80%. Eight of these involved the placement of one of several accessions of the same species or the position of species within well-supported clades. Notable among these is the placement of *E. abdelkuri* and *E. lacei*. In the ITS tree, *E. abdelkuri* is sister to the rest of sect. *Euphorbia* and *E. lacei* is the next to diverge, while in the cpDNA tree these species are nested within the section close to a group of Indian species which includes *E. antiquorum* and *E. lactea*. The other instance concerns sect. *Goniostema*. In the ITS tree, all members of sect. *Goniostema* (as circumscribed here) form a monophyletic group (though with low BS) (Fig. S1), while in the cpDNA tree seven species fall outside a well-supported sect. *Goniostema* (Fig. S2). As we discuss later, relationships in this part of the tree are not well resolved by the cpDNA in general. Given the overall congruence of data sets and the fact that the few instances of conflict were among closely related species, all data sets were concatenated for the 3-gene analysis.

Phylogenetic results.— Figure 2 shows the ML tree from the 3-gene data set. This phylogeny is largely congruent with the cpDNA tree, with a few exceptions noted below, and includes the largest taxon sample, so we chose to use this tree as the best estimate of the phylogeny of subg. *Euphorbia* (Fig. 2, S2). All data sets recovered a monophyletic subg. *Euphorbia* consisting of four major lineages (Figs. 2, S1--S3). These clades can be distinguished by their geographic distributions and we refer to them as the Pacific Clade, the New World Clade, Old World Clade I, and Old World Clade II (Fig. 2). Support for each of the major lineages is high (BS >99%, PP>0.95) from all data sets, with the exception of the ITS support for the New World Clade and Old World Clade II, but the relationships among

these clades are not well-supported (Figs. 2, S1--S3). One species from Madagascar in our sample, *E. madravioky*, which represents sect. *Pachysantha*, a newly defined section in subg. *Euphorbia*, is not well-supported as part of any of the four major clades by any data set. It is sister to the rest of the subgenus in the 3-gene tree, sister to Old World Clade II in the ITS tree, and sister to Old World Clade I in the cpDNA tree (Figs. 2, S1, S2). The position of *E. madravioky* as sister to Old World Clade I has the highest BS (78%) and makes the most sense geographically given that Old World Clade I is mainly a Madagascan clade.

Two more topological incongruencies exist between the cpDNA and 3-gene trees. As in the ITS tree, *E. abdelkuri* and *E. lacei* are inferred as sister to the rest of sect. *Euphorbia* in the 3-gene tree. This position has BS of 93% but their nested position in the cpDNA tree is well-supported as well. The second group whose position is incongruent between the concatenated data sets is sect. *Rubellae* from northeast Africa. In the 3-gene tree sect. *Rubellae* is sister to the rest of Old World Clade II though with BS of only 68%. In the cpDNA tree this section is nested within Old World Clade II (BS = 83%) and sister to the clade of sect. *Monadenium* and sect. *Euphorbia* (BS = 86%). We note that while we chose the 3-gene tree to represent our best estimate of the phylogeny of subg. *Euphorbia*, the cpDNA data resolve the relationships within Old World Clade II with higher support. However, because the *matK* matrix did not include sect. *Rubellae*, its position in the cpDNA tree is determined mainly by the *ndhF* data.

The outputs from the AWTY Compare analysis of the distribution of trees obtained from the Bayesian analysis of the cpDNA-min and 3-gene-min data sets indicated that there was some variation among the distributions of trees found in independent runs. However, for each data set there were two runs from which the PP for clades were very close to the unity line, and these runs were used to determine support for clades. The Cumulative analyses in AWTY for both the cpDNA-min and 3-gene-min data sets indicated that runs that had likely converged reached stationarity by generation 1.2×10^7 so all prior trees were discarded as burn-in. Although the difference in taxon sampling among inference methods does not allow for detailed comparisons between the Bayesian and ML trees, the topology of the 50% majority-rule consensus tree from the Bayesian analysis was generally congruent with the ML tree, and the same major clades were recovered. The posterior probabilities of major clades and sections in subg. *Euphorbia* are summarized in Fig. S3.

Taxonomic results.— The phylogenetic hypothesis presented here along with a review of morphological and geographic distribution data allowed us to assign approximately 661 species to subg. *Euphorbia* and place nearly all of these species to clades which we designate below as sections. These sections are indicated on Fig. 2 and detailed below in the taxonomic treatment where we newly define or significantly recircumscribe 11 sections, resulting in a total of 21 sections within subg. *Euphorbia*. The new sections are concentrated in the New World and in the Madagascar clades.

DISCUSSION

With our greatly increased sampling effort, we confirmed the results of several previous studies which found that *Euphorbia* subg. *Euphorbia* is a strongly supported monophyletic group (Steinmann & Porter, 2002; Haevermans & al., 2004; Bruyns & al., 2006; Zimmermann & al., 2010). Our analyses also show that the subgenus is comprised of

four strongly supported clades: the New World Clade, the Pacific Clade (sect. *Pacificae*), Old World Clade I, and Old World Clade II (Fig. 2). While each of these clades is highly supported as monophyletic in all our analyses, the relationships among them are not well supported. The lack of resolution along the backbone of the subgenus in this and all previous studies and the very short branch lengths inferred from all markers at this level of the tree (Figs. S1, S2) suggest that this is not an artifact of marker choice but rather a true signal that may reflect a rapid radiation early in the evolutionary history of the subgenus. In addition, by comparing our results with those of Horn & al. (2012), we do not see an improvement of the support values in this part of the phylogeny through an increase in taxon sampling.

The geographic distribution of each species is shown on Fig. 2. These data suggest that there has been a split between New World/Old World clades early in the history of subg. *Euphorbia*, although confidence in this interpretation is limited by the lack of support for the relationships among the Old World clades and the uncertain position of sect. *Pachysantha*. Within these two regions there is a mixture of clades that are restricted and widespread. For example, in Old World Clade II, sect. *Euphorbia* ranges from southern Africa to Indonesia while a clade comprised of sections *Goniostema*, *Denisophorbia*, and *Deuterocalli* is restricted to Madagascar. In fact, we recover two well-supported Madagascan clades that suggest at least two radiations on the island. Interestingly, the species in Old World Clade II are completely restricted to Madagascar, while among those that comprise Old World Clade I there has apparently been a dispersal to Africa with subsequent spread to the Arabian Peninsula early in the history of sect. *Tirucalli* (Fig. 2).

Fig. 2 also shows the growth form of each species in the 3-gene ML tree. From this it is clear that growth form is highly homoplasious in subg. *Euphorbia*. Below we comment on significant morphological characters within each major clade and then discuss more general patterns of morphological evolution within the subgenus.

New World Clade. — All species from the New World shown here to belong to subg. *Euphorbia* are included in a single clade which is highly supported in all but the ITS analysis (Fig 2, S1—S3). New World species have been placed in subg. *Euphorbia* in previous studies (Steinmann & Porter, 2002; Bruyns & al., 2006; Zimmermann & al., 2010), but our sampling and sequence data are the first to show the extent of the New World lineage and to show that it is monophyletic. The New World Clade consists of 11 highly supported clades or monotypic lineages which we treat here as sections. They range in size from a single species in sect. *Lactifluae* to 36 species in sect. *Nummulariopsis*. The branches that connect the New World sections are very short relative to those that subtend each of them, and accordingly there is poor resolution of the sectional relationships within the New World Clade. As with the backbone of the subgenus, this pattern is the same as that found by Horn & al. (2012) and so is not likely to be an artifact of taxon sampling or marker choice but rather a reflection of the history of this group. The New World Clade is where our results differ most from previous work. Five of the 11 sections that we recognize here have been previously described and remain largely unchanged in our circumscription, but the remaining six are new sections or are recircumscriptions of previously named groups reflecting our phylogenetic results.

A notable section we recognize among the New World species is sect. *Euphorbiastrum*, which is circumscribed here as an unusually diverse group of species in terms of their growth forms. At the base of this clade are two species, *E. laurifolia* and *E.*

cestrifolia, which are both small trees that occur in open, dry shrubland in the northern to central Andes. The next diverging species is *E. weberbaueri*, which is very different from the previous two in being a pencil-stem shrub growing in cactus-shrub vegetation of Peru and Ecuador. This is followed by *E. dussii*, which is a rare shrub from moist forests of Martinique and St. Lucia in the Lesser Antilles. Steinmann & al. (2007) hypothesized that *E. dussii* was part of sect. *Cubanthus*, but our data place it instead well nested within sect. *Euphorbiastrum*. This indicates that *E. dussii* and sect. *Cubanthus* represent two separate introductions of subg. *Euphorbia* into the West Indies. *Euphorbia pteroneura* is another semi-succulent species in this clade, with green stems resembling those of *E. weberbaueri*, but it is an herb from southern Mexico with fully developed, drought-deciduous leaves. Sister to *E. pteroneura* is *E. hoffmanniana*, a large shrub from Costa Rica. Despite the heterogeneous morphology of these species, their monophyly is highly supported by our molecular sequence data. The relationship of this clade to other species in the New World clade, however, has very little support. This section is a fine scale example of the lability of growth form evolution in *Euphorbia* and of the potential this group holds for the study of the drivers of such evolutionary patterns.

Section *Pacifica* (= Pacific Clade). — This clade was originally recovered by Steinmann and Porter (Steinmann & Porter, 2002), although they only included three species. Based on our results (Fig. 2) as well as previous treatments (Hassal, 1977; Forster, 1994), sect. *Pacifica* consists of 12 species. Nine of these species form a complex related to *E. plumerioides* and are all shrubs to small trees that grow in highland forests or coastal headlands in the southwestern Pacific area, New Guinea, and tropical Australia. Three other subtropical Australian species are included in sect. *Pacifica*, namely *E. boophthona*, *E. stevenii* (both herbs), and *E. sarcostemmoides* (a pencil-stem shrub). Zimmermann & al. (2010) included two accessions of *E. boophthona* in their analysis, one from Steinmann & Porter (2002) and another from their own collection. Their collection was placed in subg. *Chamaesyce*, while the Steinmann collection was placed in sect. *Pacifica*. Our own third accession is strongly supported as part of sect. *Pacifica* and thus confirms the results of Steinmann & Porter (2002) and Horn & al. (2012). However, this species is distinct from most other members of sect. *Pacifica* in having four cyathial glands and a pronounced caruncle, while the rest of the species have five glands and lack a caruncle. The ITS and 3-gene data sets resolve sect. *Pacifica* as sister to Old World Clade I, but the cpDNA data place it sister to Old World Clade II. Both relationships have poor BS but the clade itself is highly supported as monophyletic in all analyses regardless of taxon sampling or sequence data used (Figs. 2 S1--S3). Sect. *Pacifica* has a unique geographic distribution within the genus *Euphorbia*, occurring mainly in Papua New Guinea and Australia but also on islands of Malesia, the Philippines, Melanesia, and Hawaii.

Old World Clade I. — The third major clade recovered in our study is distributed throughout Madagascar, with a few additional species in Africa and the Arabian Peninsula. In the 3-gene and cpDNA analyses (Figs. 2, S2), this clade is more closely related to the remaining Old World species, although it is more closely related to the New World Clade in the ITS tree (Fig. S1). Neither of these placements is well supported, but the geographical distribution of the species in this clade support the results of our combined analyses (Fig. 2). In any case, the exclusion of this group from Old World Clade II (with high support) which

contains the rest of the Madagascan species except the difficult to place sect. *Pachysantheae*, suggests that there have been at least two, and possibly three, independent introductions to the island within subg. *Euphorbia*.

Old World Clade I contains several growth forms and a diversity of cyathium and fruit characters, but it can be distinguished by the prevalence of dioecy in most species. This reproductive system has not been firmly established in all species, but it appears to be a morphological synapomorphy for the clade. We recognize two sections in Old World Clade I, although their delimitations and the relationships among them are not well resolved.

Among these is sect. *Tirucalli*, which we recircumscribe to include only the pencil-stem plants in Old World Clade I. The pencil-stem species have photosynthetic, semi-succulent branches (or stems in the case of shrubs) that are typically long relative to their diameter and usually bear rudimentary, caducous leaves (Horn & al., 2012). This growth form is exemplified by *E. tirucalli*, the milkbush tree, which is planted throughout the tropics but is likely native to southern Africa or Madagascar. *Euphorbia tirucalli* has been the basis for a group at various ranks that includes all or most of the pencil-stem species in *Euphorbia*. Previous work has shown that this was an artificial grouping and that this habit has evolved many times throughout *Euphorbia* (Steinmann & Porter, 2002). The true relatives of *E. tirucalli* are a group of 23 species occurring mostly in Madagascar, but with several species in Africa and the Arabian Peninsula (Fig 2). The various groups of pencil-stem species throughout *Euphorbia* are often difficult to distinguish morphologically, but the species of sect. *Tirucalli* are characterized as dioecious shrubs or trees, with alternate branches that can appear whorled, usually pubescent overall especially the ovaries, female flowers with calyx lobes, and with a caruncle on the seeds. This combination of characters can usually serve to tell the species of sect. *Tirucalli* from other pencil-stem species.

Old World Clade II. — The remaining Old World species in subgenus *Euphorbia* comprise Old World Clade II, which is divided into four subclades. The size of sections in this clade varies from over 350 species in sect. *Euphorbia* (the spine shield euphorbias) to three species in sect. *Rubellae*. Species in Old World Clade II are distributed in Africa, Asia, and Madagascar, with the majority occurring in warm, arid climates. Spines of various form, but generally considered of stipular origin, are quite common throughout this clade, as are succulent stems (Fig. 1). Growth forms also vary greatly within and across the sections of Old World Clade II and include geophytes, pencil-stem shrubs and trees, leafy shrubs and trees, spiny xerophytic shrubs, and stem succulents of many forms.

Support for each of the four subclades and for Old World Clade II is very high (BS = 100%, PP = 1.0). However, only the cpDNA analysis resolved the relationships among the subclades with good support (>80%, Fig. S2). Several nodes differ between the ITS tree and the cpDNA tree (though with low BS from ITS) and these are likely the cause of the low BS support in the 3-gene tree. First, Section *Rubellae* is inferred as sister to the rest of Old World Clade II in the ITS tree (Fig. S1) and as sister to sect. *Monadenium* + sect. *Euphorbia* in the cpDNA tree (Fig. S2). Second, the sister clade of sect. *Euphorbia* is the clade of sections *Denisophorbia*, *Deuterocalli*, and *Goniostema* in the ITS tree but it is sect. *Monadenium* in the cpDNA tree. The general lack of support provided by the ITS data at this level of the phylogeny make us tend to favor the cpDNA topology. However, sect. *Rubellae* is not present in the *matK* data set, so its position in the cpDNA tree is mostly driven by the *ndhF* data.

Horn & al. (2012), who compiled the largest data set in terms of sequence data, found the same sister relationship for sect. *Euphorbia* as in our 3-gene tree (Fig. 2). However, they did not include sect. *Rubellae* so we cannot draw comparisons about the overall topology of Old World Clade II compared to our study. For simplicity, we discuss the groups within Old World Clade II referring to the topology in Fig. 2.

Sect. *Rubellae*, represented here by *E. rubella* and *E. brunellii*, is a group of three species from northeast Africa and is the only clade in subg. *Euphorbia* completely comprised of geophyte species. Aside from their habit, the most distinctive feature of this group is the 4 + 2 arrangement of the cyathial glands: four oblong-elliptic glands of equal size and two smaller, orbicular ones that are apparently derived from splitting of the original fifth gland (Gilbert, 1987). These species were formerly included in subg. *Lacanthis* (=sect. *Goniostema*), but Haevermans et al. (2004) showed that they are not closely related to this now entirely Madagascan group, and their finding is confirmed by our results.

Following sect. *Rubellae* in Old World Clade II is a highly supported clade consisting of three sections endemic to Madagascar: sect. *Deuterocalli*, sect. *Denisophorbia*, and sect. *Goniostema*. In our ITS analysis, these sections form monophyletic groups with high support for two of them (Fig. S1), but the chloroplast data does not resolve the relationships of these three groups well (Fig. S2). Specifically, several species (*E. iharanae*, *E. neohumbertii*, *E. alfredii*, *E. geroldii*, and *E. viguieri*) that belong to sect. *Goniostema* are placed outside this clade in both of the concatenated analyses. Horn & al. (2012) included *E. iharanae* and *E. neohumbertii* in their analysis and also found these two species to be outside sect. *Goniostema*. These species represent a group from northern Madagascar that is characterized by some very distinctive morphological features. Several species in this group are unarmed trees or small shrubs from the rainforest of Northeast Madagascar (e.g. *E. geroldii*), while others are succulent shrubs or monocauls that occur in dry habitats of northern Madagascar. The latter group has bristly spines (e.g. *E. viguieri*, *E. iharanae*) or small glandular combs (e.g. *E. alfredii*) in vertical rows along the stem (Fig. 1). Some are also distinguished by erect cyathophylls that envelop the cyathia and resemble a floral tube. These species have previously been placed in sect. *Goniostema* based on morphology and distribution, and despite their ambiguous placement in our concatenated analyses they are part of a monophyletic sect. *Goniostema* in our ITS tree (Fig. S1). Moreover, results from Aubriot & Haevermans (in prep.), with comprehensive sampling of sections *Deuterocalli*, *Denisophorbia*, and *Goniostema* and numerous additional molecular markers, infer a well resolved phylogeny that supports the monophyly of the three sections in Old World Clade II and firmly places these species within sect. *Goniostema*.

One of the major subclades within Old World Clade II is sect. *Monadenium*, which is distributed throughout eastern, central, and southern Africa. This is a highly supported clade of about 90 species that are easily recognized morphologically by the fusion of the cyathial glands into a horseshoe shaped rim or less commonly into a complete ring. This difference with respect to other *Euphorbia* species was the reason this group was segregated from *Euphorbia*, but our results and those from previous studies have confirmed that this group is well nested within subg. *Euphorbia* (Steinmann & Porter, 2002; Bruyns & al., 2006; Zimmermann & al., 2010). Species of sect. *Monadenium* include geophytes, succulent and non-succulent shrubs, as well as trees, vines, and one pencil-stem species.

The largest clade in subg. *Euphorbia* and perhaps the best known is sect. *Euphorbia* – the spine shield euphorbias. This group is a well-defined clade of over 340 species distributed mostly throughout Africa but also across southern and southeast Asia into Indonesia. The defining character for this clade is the spine shield – a horny pad of tissue subtending or surrounding each leaf base which typically bears two or four spiny outgrowths (Fig. 1). These outgrowths are usually interpreted as a pair of stipular spines and a pair of prickles (Carter, 1994). The vast majority of species in sect. *Euphorbia* have spine shields, but in a few species they have been lost. Most species in this section are stem succulents varying in size from prostrate dwarf shrubs to large candelabrum trees with angled, winged, or tuberculate stems and minute, caducous leaves. However, there are also geophytes and large trees that have well developed leaves. Several geophytic species from India, including *E. fusiformis*, *E. nana*, and *E. meenae*, have only recently been shown to belong to sect. *Euphorbia*. Because they lack above-ground stems, there were no obvious characters that would place them in sect. *Euphorbia*. DNA sequence data from our individual data sets and previous studies, however, confirm that they are indeed part of the section (Steinmann & Porter, 2002; Bruyns & al., 2006; Zimmermann & al., 2010).

Growth form evolution. — *Euphorbia* subg. *Euphorbia* contains the full range of growth form diversity that is present in the entire genus (Figs. 1, 2). Moreover, our phylogenetic results confirm the conclusion of Horn & al. (2012) that specialized growth forms have evolved in each subgenus and show that most growth forms are also homoplasious within subg. *Euphorbia*. Horn & al. (2012) inferred the common ancestor of subg. *Euphorbia* to be a shrub or tree with alternate leaves and terminal cyathia, and this form (exclusive of cyathial position) is generally retained in sections *Pachysanthae*, *Pervilleanae*, and *Denisophorbia* in Madagascar, as well as most sections in the New World Clade. We see the evolution of herbs four times in subg. *Euphorbia*: in the clade of sect. *Portulacastrum* + sect. *Nummulariopsis*, *E. pteroneura* of sect. *Euphorbiastrum* in the New World, in sect. *Monadenium* in the Old World, and in several Australian members of sect. *Pacificae*. Geophytic species are present in all sections of Old World Clade II and comprise the entire sect. *Rubellae*, the sister group to all other species in this clade. The one geophyte from sect. *Monadenium* in our sample, *E. neogracillis*, is sister to the rest of the section in Fig. 2 but the geophytes in sect. *Goniostema* and sect. *Euphorbia* have been shown to be nested well within those clades, suggesting that this growth form has evolved independently multiple times in Old World Clade II (Haeveermans & al., 2004; Zimmermann & al., 2010; Bruyns & al., 2011). Similarly, the pencil-stem tree/shrub habit has evolved at least eight times in subg. *Euphorbia*: four times in the New World Clade, twice in Old World Clade I, and twice in Old World Clade II (Fig. 2).

Highly succulent, photosynthetic stems are present in sect. *Euphorbia* and in sect. *Monadenium*. While both of these sections contain a range of growth forms, all but a handful of species in sect. *Euphorbia* have spiny, succulent stems. The exceptions include the few geophytes mentioned above, and some leafy trees such as *E. drupifera*. The diversity of forms found in sect. *Euphorbia* can be considered variations of stature on the stem succulent theme. Consequently, the species range from trees up to 16 m tall, such as *E. grandicornis*, to dwarf shrubs only a few centimeters high such as *E. decidua*. Also, while most species have minute, caducous leaves, there are some that produce quite large, persistent ones. These include

species such as *E. nerifolia* and *E. royleana* from India. Because these species are nested well within sect. *Euphorbia*, the presence of persistent leaves appears to be a reversal to the ancestral state for the subgenus (Horn & al., 2012). Growth form evolution in sect. *Monadenium* appears to have been more a matter of switching habits rather than changes in size. This section contains the entire range of growth forms found throughout the subgenus, and the stem succulent species make up only a few of the total. Also, while the stems of some species are succulent and green, the loss of functional leaves is much less pronounced in sect. *Monadenium*, and most species produce large, succulent leaves.

The switch to stem-based photosynthesis, as has happened in sect. *Euphorbia* and in all the pencil stem species, putatively involves several steps including an increase in the stem stomatal density, delaying or abandoning bark initiation, often increasing the volume of cortex for water storage, and the development of the Crassulacean Acid Metabolism photosynthetic system (Nobel, 1988; Edwards & Donoghue, 2006). Given the frequency with which stem-based photosynthesis has evolved in subg. *Euphorbia*, it seems that these are relatively “easy” transitions to make in this group. In the Cactaceae, Edwards and Donoghue (2006) showed that *Pereskia* species, which are the closest relatives to the core cacti, have high water use efficiency and some level of CAM photosynthesis and suggested that this was preadaptive for the transition to the succulent-stemmed cactus life form. CAM has been inferred in most stem photosynthetic species in subg. *Euphorbia*, but the close relatives of the pencil-stem species do not have CAM (Horn & al., 2012).

Diversity of cyathial morphology.— While most species in subg. *Euphorbia* have relatively unspecialized cyathia with five usually yellow glands that lack appendages and with small, inconspicuous cyathophylls, some of the showiest and morphologically most-derived forms of cyathia in the genus can also be found within this subgenus (Fig. 1). For example, all species in sect. *Monadenium* possess cyathia in which the nectar glands have all fused either into a horseshoe shape or a full circle, as well as cyathophylls that are more or less fused dorsally, resulting in bilateral symmetry.

Sect. *Crepidaria* contains another dramatic example of fusion of cyathial parts and a shift to bilateral symmetry. In this section, the nectar glands are positioned on one side of the involucre and are enveloped in a spur formed by the fusion of petaloid gland appendages. This is perhaps the greatest deviation from the typical open, actinomorphic cyathium that resembles a typical dicot flower. This unique form is often associated with hummingbird pollination (Dressler, 1957) and represents a unique syndrome within *Euphorbia*. Cacho & al. (2010) suggested that the nectar spur was a key innovation that led to a rapid radiation in sect. *Crepidaria*. While they noted that high morphological divergence relative to the low sequence variation among species suggested a rapid radiation after the evolution of nectar spurs, especially when coupled with the long branch leading to the extant members of the clade (inferred in multiple studies including the current study), they were unable to find unique support for the key innovation hypothesis except when assuming an outgroup of only one species. Our results do not resolve the sister relationship of sect. *Crepidaria* but place it most closely to multispecies clades that would be unlikely to support the key innovation hypothesis.

Well-developed cyathophylls occur in sect. *Goniostema*, and this is a morphological synapomorphy for the clade (Fig. 1). In most species in sect. *Goniostema* the cyathophylls

have become brightly colored (usually red or yellow) and can be spreading or in a few species (e.g. *E. neohumbertii*, *E. iharanae*) envelop the cyathium completely mimicking a pseudo-floral tube. Effects on pollination are unknown but the change in shape in these “tubular” cyathia presumably affects the mechanism and/or effort required to access the nectar and could be associated with more specialized pollinators.

CONCLUSIONS

This study represents the most taxonomically and geographically comprehensive phylogenetic study of *Euphorbia* subg. *Euphorbia* to date. Sequence data from multiple regions representing both the nuclear and chloroplast genomes allow us to infer phylogenetic relationships across the subgenus and support four major lineages within the subgenus which are characterized by their distributions. Perhaps most significantly our results establish the extent of the New World group in subg. *Euphorbia* and establish the monophyly of all New World species. Our phylogeny also supports the hypothesis of multiple independent lineages in Madagascar within subg. *Euphorbia*. Included in these is sect. *Tirucalli*, which is recircumscribed to include only the monophyletic group of pencil-stem species that includes *E. tirucalli*. Also included in these Madagascan clades are three sections of leafy shrubs and trees (sect. *Denisophorbia*, sect. *Pervilliana*, and sect. *Pachysantha*) that require more thorough study to understand their circumscriptions and the delimitations of species within them.

Consistent with the overall evolutionary lability of growth form in *Euphorbia* as a whole, several of these sections contain an impressive range of growth forms for their size, and the pencil-stem form is particularly homoplasious within the subgenus. Utilizing the phylogenetic framework established in this study, future studies will focus on potential drivers of the evolution of the unusual pencil-stem growth form as well as patterns of geographical and morphological differentiation in the large spine-shield clade, sect. *Euphorbia*.

TAXONOMIC TREATMENT

Euphorbia L. subg. *Euphorbia* □ Lectotype (Millspaugh 1909: 306): *Euphorbia antiquorum* L.

Euphorbia subg. *Tithymalus* Pers., Syn. Pl., part 2(1): 6. 1806. □ Type: *Euphorbia antiquorum* L.

As the largest and most diverse of the four subgenera of *Euphorbia*, subg. *Euphorbia* is the most difficult to characterize morphologically within the genus. This clade has the greatest number of succulent and spiny species. Subg. *Rhizanthium* also has a significant number of spiny, succulent species, but the spines in that group are of generally peduncular origin, whereas in subg. *Euphorbia* they are either stem enations or more complex ‘spine shields’ that may be of stipular origin (Fig. 1; Carter, 1994). Many of the succulent, spiny species are leafless, but members of both sects. *Euphorbia* and *Goniostema* can also be both leafy and spiny. There are a number of evergreen or deciduous tree species in subg. *Euphorbia* in both Madagascar and the New World, and there are several lineages or species that show leafless and spineless pencil-stem habits. There are rather few truly herbaceous species in the subgenus, but a limited number of geophytes occur in at least four Old World clades.

Reproductively, subg. *Euphorbia* is notable for its wide variations of the cyathium, particularly in gland number and shape (Fig. 1). The glands generally lack appendages, but there are several smaller groups with either short horns, finely divided rims, or even finger-like processes (Fig. 1). The bracts immediately subtending the cyathia, as opposed to the dichasial bracts subtending or along the rays of the synflorescence, are showy and diagnostic in several groups. In our descriptions below we use the term cyathophylls to refer to these subcyathial bracts in all groups. The larger sections have bisexual cyathia, but dioecy is characteristic of some smaller sections. Similarly, caruncles are present in some groups, but absent in others.

Altogether, 661 species are recognized in the subgenus. For each section listed below, we provide a list of their component species. Those species appearing in **boldface** have been sampled molecularly in this study, whereas those appearing in *italics* are inferred to belong to the section based on their morphology and distribution. A complete database of names and synonyms with additional information is available online at the Tolkin website (<http://app.tolkin.org/projects/72/taxa>, Riina and Berry, 2011-2012).

1. *Euphorbia* sect. *Pachysanthae* X. Aubriot & T. Haevermans, **sect. nov.** – Type: *Euphorbia pachysantha* Baillon.

Shrubs to large trees (2-20 m), “bottle-shaped” and unbranched at the base, mostly monoecious. Stems succulent toward the apices; bark gray, smooth to wrinkled. Leaves spiralled, at the apices of the branches, obovate to lanceolate, succulent (with the exception of *E. pachysantha*); stipules reduced to two small glands. Synflorescence subterminal, of a single or 2--4 cyathia at the apex of the twigs; cyathophylls 2, well-developed, green-yellow, soon deciduous; glands 5, elliptic to reniform, exappendiculate, green-yellow. Capsules presumably dehiscent (dehiscence line present though dehiscence not observed), erect or pendant, 3-locular to unilocular by abortion, smooth to slightly wrinkled, green when young, 1.5--4 cm in diameter; seeds 1--3, smooth, globular, caruncle absent.

Distribution – Madagascar. In a variety of habitats throughout the island, such as thickets in xeric bush of the southeast, tsingy formations in the north, remnant forests in the high plateaus in the northwest, and rainforest relicts of the central east.

Included species (4) – *E. mananarensis* Leandri, ***E. mandravioky*** Baillon, *E. pachysantha* Baillon, *E. pirahazo* Jumelle.

The large, uni- or bilocular fruits of this section are quite rare in *Euphorbia* and their presence suggests a close relationship to sect. *Pervilleanae*. However, though they have been rarely collected, the fruits are apparently fleshy and indehiscent in *E. pachysantha*.

2. *Euphorbia* sect. *Tanquahueteae* V.W. Steinm. & B.L. Dorsey, **sect. nov.**—TYPE: *Euphorbia tanquahuete* Sessé & Moc.

Trees to 25 m tall, trunk to 50 cm d.b.h. Stems round in cross section, glabrous to pubescent, bark smooth and exfoliating into thin papery sheets. Leaves spirally arranged, drought deciduous; stipules glandular, minute, lateral at the base of the petiole; petiole well-defined; blade elliptic, base attenuate, apex acute, obtuse, mucronulate or apiculate, margin entire, glabrous to pubescent, pinnately nerved. Synflorescenc axillary, originating from leafless

nodes of older stems, rays 3–9, dichasia 1-branched; cyathophylls 2, white to yellow; involucre on a thick peduncle that becomes woody in fruit; glands 5, patelliform, situated on the rim of the involucre, without appendages; gynophore terminating in 3 short triangular calyx-like lobes; ovary glabrous, styles connate at the base, shortly swollen-clavate, apex inconspicuously bifid to lobed. Capsule included within or barely exerted from the involucre, dry or with a slightly fleshy mesocarp; seeds broadly ovoid to subglobose, rounded to slightly quadrangular in cross section, base and apex rounded, smooth, ecarunculate.

Distribution and habitat. – Central-western to southern Mexico; subtropical deciduous forests in montane canyons and lava flows; near sea level to 2100 m.

Included species (2). – *E. lundelliana* Croizat, *E. tanquahuete* Sessé & Moc.

Euphorbia section *Tanquahueteae* contains two tree species that are by far the largest members of *Euphorbia* in the New World, and among the largest species in the genus. *Euphorbia lundelliana* is a poorly known species, but it is placed here because of its arborescent habit, similar leaves, large fruits, and smooth, ecarunculate seeds. Further study may show it to be conspecific with *E. tanquahuete*.

3. *Euphorbia* sect. *Cubanthus* (Boiss.) V.W. Steinm. & P.E. Berry, Anal. Jard. Bot. Madrid 64: 123-133. 2007. *Pedilanthus* sect. *Cubanthus* Boiss. in DC., Prodr. 15(2): 7 1862; *Cubanthus* (Boiss.) Millsp., Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 2: 371. 1913. – Type: *Pedilanthus linearifolius* Griseb. (= *Euphorbia scutiformis* V.W. Steinm. & P.E. Berry).

Adenorima Raf., Fl. Tell. 4: 112. 1838 ('1836'); *Euphorbia* sect. *Adenorima* (Raf.) G.L. Webster, J. Arnold Arbor. 48: 407. 1967. Type: *Adenorima punicea* (Sw.) Raf. (= *Euphorbia punicea* Sw.).

Monoecious shrubs to small trees; stems soft-wooded, somewhat fleshy, terete. Leaves alternate, spirally arranged, clustered toward branch apices, membranaceous to slightly coriaceous, entire, sessile; stipules minute, glanduliform, caducous or apparently absent. Cyathia in terminal dichasia; cyathophylls generally red; glands one to eight, situated on the rim of the involucre or on its outer wall, green, yellow or reddish, appendages lacking; ovaries and fruits smooth, glabrous, sometimes subtended by a three-lobed, calyx-like structure; seeds ecarunculate.

Section *Cubanthus* is the only group within subg. *Euphorbia* with a strictly Caribbean distribution. It is also one of very few in the entire genus in which some species possess a relatively well-developed perianth. The cyathial glands are distinctive in subsect. *Moa* in being usually placed on the outer wall of the involucre (rather than on the rim) and in one species, *E. umbelliformis*, reduced to a single gland.

3a. *Euphorbia* subsect. *Cubanthus* V.W. Steinm. & P.E. Berry, Anal. Jard. Bot. Madrid 64: 123-133. 2007. □ Type = *Pedilanthus linearifolius* Griseb. (= *Euphorbia scutiformis* V.W. Steinm. & P.E. Berry).

Leaves narrowly spatulate, clustered at branch apices, those subtending the cyathia not distinct; cyathophylls red but less intensely so than in sect. *Moa* (green in *E. cubensis*); glands usually on the outer wall of the involucre.

Distribution and habitat. – Caribbean (Bahamas, Cuba, Jamaica); scrub forest mostly on limestone.

Species included (6). – *E. cubensis* Boiss., *E. gymnonota* Urb., *E. millspaughii* V.M. Steinm. & P.E. Berry, *E. punicea* Sw., *E. scutiformis* V.W. Steinm. & P.E. Berry, *E. umbelliformis* (Urb. & Ekman) V.W. Steinm. & P.E. Berry.

3b. *Euphorbia* subsect. *Moa* V.W. Steinm. & P.E. Berry, Anal. Jard. Bot. Madrid 64: 123-133. 2007. □ Type = *Euphorbia helenae* Urb.

Leaves elliptic to oval, regularly spaced along stems, those subtending the cyathia bright red and of distinct shape. Cyathophylls showy, red; involucre red; glands yellow, situated on involucre rim; male flowers red except for anthers; female flowers red.

Distribution and habitat. – Caribbean (eastern Cuba); scrub and forests on serpentine soils.

Species included (3). – *E. helenae* Urb., *E. munizii* Borhidi, *E. podocarpifolia* Urb.

4. *Euphorbia* sect. *Lactifluae* B.L. Dorsey & V.W. Steinm., **sect. nov.** □ Type = *Euphorbia lactiflua* Phil.

Xerophytic shrubs, to 2.5 m tall, but mostly 1 m or less, soft wooded and highly branched, bark grayish to red-brown, not exfoliating, drought deciduous; stems rounded in cross-section; whole plant glabrous, latex white. Leaves well developed, spirally arranged, loosely arranged on long shoots or highly congested on short shoots; stipules absent or represented by minute punctiform glands less than 0.1 mm in diameter at the base of the petiole; petiole short and inconspicuous; blade linear to narrowly elliptic, base attenuate, apex acute to apiculate, margin entire, secondary venation not evident. Synflorescence terminal on short lateral shoots, sometimes terminal on main branches; rays 3 or 4, dichasial bracts and cyathophylls showy, yellow, cyathia 2 (3); cyathia sessile, glands 5(6), transversely oblong, situated on the rim of the involucre, without appendages; gynophore terminating in 3 inconspicuous rounded calyx-like lobes; ovary glabrous, styles united into a short column ca. 1/6 their length, apex emarginate to bifid. Capsule barely exerted from the involucre; seeds plumply obloid, rounded in cross-section, base and apex rounded, smooth, with a conspicuous, hooded caruncle.

Distribution and habitat. – Northern Chile, rocky areas of Atacama Desert from the region of Antofagasta south to the vicinity of Copiapó; nearly sea level to 700 m.

Species included (1). – *E. lactiflua* Phil.

Euphorbia lactiflua is distinctive both vegetatively with its swollen branches and reproductively with its showy cyathophylls. All phylogenetic analyses support that section *Lactifluae* is an isolated, early branching lineage within the New World group of subg. *Euphorbia*. Close affinities with other *Euphorbia* species are not obvious. Although it was previously treated together with a number of leafless Old World succulents in sect. *Tirucalli* Boiss. (Boissier, 1862), this placement is not supported by our phylogenetic results.

5. *Euphorbia* sect. *Mesophyllae* V.W. Steinm. & B.L. Dorsey, **sect. nov.** □ Type = *Euphorbia sinclairiana* Benth.

Mesophytic shrubs or small trees to 5 m tall, little branched, bark not exfoliating. Stems thick and fleshy, rounded in cross-section, glabrous. Leaves large, 25–35(45) x 5–12 cm, loosely and spirally arranged; stipules well-developed, lateral at the base of the petiole, ovate to triangular, caducous and leaving a conspicuous calloused pad; petiole distinct, less than 1/10 the length of blade; blade obovate, base attenuate, apex acute to obtuse, margin entire, pinnately veined. Synflorescence terminal (sometimes appearing axillary), often long-pedunculate; cyathophylls 2, foliaceous or scale-like and highly reduced; cyathia on short peduncles, glands 5, circular to transversely oblong, situated on the rim of the involucre, without appendages; gynophore terminating in 3 triangular calyx-like lobes; ovary glabrous, styles united into a slender column 4/5–5/6 their length, apex emarginate to bifid. Capsule included within or barely exerted from the involucre, deeply 3-lobed, smooth or reticulately ridged; seeds globose to ovoid, rounded in cross-section, base truncate with a circular depression, apex mucronulate, smooth, ecarunculate.

Distribution and habitat. – Mexico (Chiapas), Costa Rica, Panama, Colombia, Peru, Brazil (Acre); understory of wet, lowland forests but also extends to higher elevations in cloud forest.

Species included (1). – *E. sinclairiana* Benth.

Bernal et al. (2006) provided a discussion of the morphological variation within this species and concluded that *Euphorbia elata* is best treated as a synonym of *Euphorbia sinclairiana*. Three other species similar to *E. sinclairiana* have been described (*E. capansa* Ducke, *E. tessmannii* Mansf., and *E. valerii* Standl.), but we treat them here as a single widespread species that varies in characters such as inflorescence length and persistence of the cyathophylls, but is characterized by the extremely distinctive habit and large, oblanceolate leaves, as well as growing in wet forest understoreys.

6. *Euphorbia* sect. *Euphorbiastrum* Boiss., in DC., Prodr. 15(2): 10, 99. 1862.

Euphorbiastrum Klotzsch & Garcke in Klotzsch Monatsb. Akad. Berlin 1859: 252. – Lectotype (Wheeler, 1943: 467): *Euphorbiastrum hoffmannianum* Klotzsch & Garcke (= *Euphorbia hoffmanniana* (Klotzsch & Garcke) Boiss.).

Euphorbiodendron Millsp., Praen. Baham. II. Field Mus. Pub. Bot., 2: 289-322. 1909. – Lectotype (Wheeler, 1943: 467): *Euphorbia laurifolia* Juss.

Euphorbia sect. *Pteroneurae* Berger, Sukk. Euph. 28. 1906: □ Type: *Euphorbia pteroneura* Berger

Herbs, shrubs or trees; branches green and succulent or woody with bark. Leaves oblong to rhombic or scale-like and then caducous, stipules present (glandular and surrounding the leaf scar) or absent. Synflorescence axillary or terminal, subsessile to pedunculate; cyathia subsessile to pedunculate; glands 4 or 5, appendages lacking; cyathophylls minute to longer than cyathium; seeds with a tiny caruncle.

Distribution and habitat. – Northern to central Andes of South America (Venezuela, Colombia, Ecuador, Peru), southern Mexico, and West Indies (Windward Islands); montane scrub and forest edges, lowland moist forests.

Species included (6). – *E. cestrifolia* Kunth, *E. dussii* Krug & Urb. ex Duss, *E. hoffmanniana* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. laurifolia* Juss. ex Lam., *E. pteroneura* Berger, *E. weberbaueri* Mansf.

This section contains a highly variable collection of species in most characters. However, as noted in Steinman & Porter (2002), several morphological characters support the close relationship of these species, including the carunculate seeds and the well-developed, complex glandular stipules in *E. weberbaueri* and *E. cestrifolia*.

7. *Euphorbia* sect. *Calyculatae* V.W. Steinm & B.L. Dorsey, **sect. nov.** □ Type = *Euphorbia calyculata* Kunth

Trees or shrubs to 12 m tall, trunk to 20 cm d.b.h. Stems round in cross-section, glabrous or sparsely pubescent, bark rugose to furrowed. Leaves spirally arranged, loosely so (*E. xylopoda*) or congested at the ends of the branches (*E. calyculata*), drought deciduous; stipules present, glanduliform-conical, lateral at the base of the petiole; blade elliptic, base attenuate, apex acute or obtuse, margin entire, pinnately veined. Synflorescence subterminal with 3-5 rays and dichasia 2-4 times branched (*E. calyculata*) or cyathia solitary and terminal at the ends of the main branches and subtended by three prominent white cyathophylls (*E. xylopoda*); cyathia pedunculate, glands 5, transversely elliptic to oblong, situated on the rim of the involucre, without appendages; gynophore terminating in 3 triangular calyx-like lobes; ovary glabrous, styles united into a column for 1/5 to 2/3 their length, swollen and emarginate at the apex. Capsule exserted from the involucre; seeds obloid, slightly angled in cross-section, base and apex rounded, smooth, carunculate.

Distribution and habitat. – Mexico (Jalisco, Michoacán, Guanajuato, Oaxaca); deciduous montane woodlands and lava flows, 1600–2300 m.

Species included (2). – *E. calyculata* Kunth, *E. xylopoda* Greenm.

Euphorbia sect. *Calyculatae* is restricted to western Mexico (Jalisco to Oaxaca) and occurs in tropical deciduous forest, oak woodland, subtropical scrub and pine-oak forest. It contains two closely related but morphologically very distinct species. Whereas *E. calyculata* has terminal pseudopleiochasial synflorescences typical of many groups of *Euphorbia*, the cyathia of *E. xylopoda* are solitary and terminal at the tips of the main branches, an uncommon condition in the genus. Steinmann & al.(2007) proposed that *E. calyculata* was closely related to sect. *Cubanthus*, noting the similar leaf arrangement and calyx-like structure, but such a relationship is not supported by our phylogenies.

8. *Euphorbia* sect. *Portulacastrum* Boiss. in DC., Prodr. 15(2): 9, 69. 1862. – Lectotype (Wheeler, 1943: 481): *Euphorbia pentlandii* Boiss.

Monoecious, annual, procumbent, hairy herbs. Leaves sparse, entire, ovate to orbicular, petioles as long as blade or longer. Cyathia axillary, solitary, sessile or shortly pedunculate; glands 4, with appendages 3--5-digitate; styles undivided. Capsule depressed ovoid, strongly 3-sulcate; seeds transversely grooved, ecarunculate.

Distribution and habitat. – Bolivia, Chile; montane habitats.

Species included (2). – *E. germainii* Boiss., *E. pentlandii* Boiss.

This is a rarely collected section that differs from its sister clade, sect. *Nummulariopsis*, in being annual herbs without pistillate calyces and with digitate cyathial gland appendages.

9. *Euphorbia* sect. *Nummulariopsis* Boiss. in DC., Prodr. 15(2): 9, 71. 1862. – Type: *Euphorbia peperomioides* Boiss.

Euphorbia sect. *Tithymalus* subsect. *Inundatae* G.L. Webster, J. Arnold Arb. 48: 400. 1967. – Type: *Euphorbia inundata* Torr.

Monoecious or dioecious herbs, usually perennial, often with a fleshy rootstock. Stems terete, ascending or prostrate. Leaves alternate or sometimes opposite on vegetative stems, entire to serrate, opposite on fertile rays, stipules glandular, minute to elongate. Cyathia solitary and axillary or in terminal pseudopleiochasia, glands 4-5(7), without appendages, sometimes bicornute; female flowers with well-developed perianth lobes; ovary globose. Seeds smooth to variously sculptured, ecarunculate.

Distribution and habitat. – Southeastern U.S.A., southern South America (Argentina, Bolivia, Brazil, Chile, Paraguay, Peru, Uruguay); high montane habitats, grasslands, and sand dunes (South America), pine woodlands and sandy areas (U.S.A.).

Species included (37). –*E. araucana* Phil., *E. boerhaavioides* Rusby, *E. burkartii* Bacigalupo, *E. caespitosa* Lam., *E. chamaeclada* Ule, *E. collina* Phil., *E. copiapina* Phil., *E. cordeiroae* P. Carrillo & V.W. Steinm., *E. correntina* Parodi, *E. cymbiformis* Rusby, *E. duriuscula* Pax & K. Hoffm. ex Herzog, *E. eanophylla* Croizat, *E. elodes* Boiss., *E. elquiensis* Phil., *E. floridana* Chapm., *E. guachanca* Haenke in Azara, *E. guaraniorum* P. Carrillo & V.W. Steinm., *E. hieronymi* Subils, *E. hinkleyorum* I.M. Johnst., *E. huanchahana* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. inundata* Torr. ex Chapm., *E. macraulonia* Phil., *E. ovalleana* Phil., *E. pampeana* Speg., *E. papillosa* A. St.-Hil., *E. paranensis* Dusén, *E. pedersenii* Subils, *E. peperomioides* Boiss., *E. porphyrantha* Phil., *E. portulacoides* L., *E. raphanorrhiza* (Millsp.) J.F. Macbr., *E. raphilippii* Oudejans, *E. rhabdodes* Boiss., *E. roscens* E.L. Bridges & Orzell, *E. schickendantzii* Hieron., *E. stenophylla* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. telephioides* Chapm., *E. thinophila* Phil.

Most species in this section are confined to southern South America, but a group of four species disjunct to the southeastern United States that was formerly treated as subsect. *Inundatae* G.L. Webster (Bridges & Orzell, 2002) is strongly supported as sister to the South American species. Both groups share the uncommon feature of a relatively well-developed calyx. Most of these species are functionally dioecious, a feature shared so far only with *E. hieronymi* among the South American species.

10. *Euphorbia* sect. *Crepidaria* (Haw.) Baill., Étude Gén. Euphorb. 284. 1858. *Crepidaria* Haw., Syn. Pl. Succ. 136. 1812. – Lectotype (Wheeler, 1939: 44): *Crepidaria myrtifolia* (Miller) Haw. (= *Euphorbia tithymaloides* L.).

Pedilanthus Necker ex Poiteau, Elem. Bot. 2: 354. 1790. *Pedilanthus* sect. *Eupedilanthus* Boiss. in DC., Prodr. 15(2): 4. 1862. *Tithymaloides* sect. *Pedilanthus* Gomez de la Maza, Fl. Haban. 154. 1897. *Tithymaloides* sect. *Eutithymalodes* Kuntze in Post & Kuntze, Lex. Gen. Phan. 562. 1904. – Lectotype (Millsbaugh, 1909: 300): *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poiteau (= *Euphorbia tithymaloides* L.).

Tithymalus Mill., Gard. Dict. ed. 2, 3. 1754. – Type: *Tithymalus myrtifolius* Mill. (= *E. tithymaloides* L.).

Tithymaloides Ortega, Tab. Bot. Tournefort., ed. 2. 28. 1783. – Lectotype (Wheeler, 1939: 45): *Tithymaloides myrtifolium* (L.) Kuntze (= *Euphorbia tithymaloides* L.).

Venitenatia Tratt., Gen. Pl. 86. 1802. Type: *Venitenatia bracteata* (Jacq.) Tratt. (= *Euphorbia bracteata* Jacq.).

Diadenaria Klotzsch & Garcke, Monatsb. Akad. Berlin. 254. 1859. *Tithymaloides* sect. *Diadenaria* (Klotzsch & Garcke) O. Kuntze, in Post & Kuntze, Lex. Gen. Phan. 562. 1904. – Lectotype (Wheeler, 1939: 44): *Diadenaria pavonis* Klotzsch & Garck (= *Euphorbia bracteata* Jacq.).

Hexadenia Klotzsch & Garcke, Monatsb. Akad. Berlin 253. 1859. – Type: *Hexadenia macrocarpa* (Benth.) Klotzsch & Garcke (= *Euphorbia lomelii* V.W. Steinmann).

Monoecious shrubs to small trees. Stems succulent or not. Leaves alternate, minute and scalelike to large and elliptic, deciduous to persistent, entire; petiole short to absent, stipules small, caducous. Synflorescence terminal or axillary; cyathia zygomorphic, cyathophylls red to green, spreading or not, variously shaped, glands 2-6, appendiculate, situated on dorsal side of involucre and usually enclosed in a spur-like extension of the involucre tube. Seeds ecarunculate.

Distribution and habitat. – Mexico, Central America, West Indies, northern South America, southeastern U.S.A. (Florida).

Species included (15). – *E. bracteata* Jacq., *E. calcarata* (Schltdl.) V.W. Steinm., *E. coalcomanensis* (Croizat) V.W. Steinm., *E. colligata* V.W. Steinm., *E. conzattii* V.W. Steinm., *E. cymbifera* (Schltdl.) V.W. Steinm., *E. cyri* V.W. Steinm., *E. diazlanana* (J. Lomelí & Sahagun) V.W. Steinm., *E. dressleri* V.W. Steinm., *E. finkii* (Boiss.) V.W. Steinm., *E. lomelii* V.W. Steinm., *E. peritropoides* (Millsp.) V.W. Steinm., *E. personata* (Croizat) V.W. Steinm., *E. tehuacana* (Brandegee) V.W. Steinm., *E. tithymaloides* L.

Sect. *Crepidaria* corresponds to the former genus *Pedilanthus* and is a collection of fifteen species from a wide range of habitats. The highly modified, zygomorphic cyathia in which a nectar spur is constructed of both involucre and gland appendage tissue easily distinguish this group (Dressler, 1957).

11. *Euphorbia* sect. *Stachydium* Boiss. in DC., Prodr. 15(2): 9, 65. 1862. – Lectotype (Wheeler, 1943: 481): *Euphorbia comosa* Vell.

Monoecious herbs or shrubs; stems green, laxly to densely branched. Leaves ovate to linear-lanceolate, petiolate or sessile, drought deciduous; cyathia sessile, solitary, subtended by a foliaceous bract which overlaps with those of the other cyathia, glands 4(5), elliptic, green-yellow, appenadges lacking. Capsules elongate, glabrous, pedicillate, recurved or erect; seeds tetragonous, tuberculate, carunculate.

Distribution and habitat. –South America.

Species included (7). – *E. comosa* Vell., *E. gollmeriana* Klotzsch ex Boiss., *E. heterodoxa* Mull.-Arg., *E. invaginata* Croizat, *E. lagunillarum* Croizat, *E. psammophila* Ule, *E. vervoorstii* Subils.

12. *Euphorbia* sect. *Brasiliensis* V.W. Steinm. & B.L. Dorsey, **sect. nov.** – Type = *Euphorbia phosphorea* Mart.

Monoecious, xerophytic, stem-succulent shrubs to 6 m tall, highly branched. Stems ascending with a persistent green epidermis, 4--6 angles descending from leaf scars, waxy. Leaves alternate, highly reduced and quickly deciduous, ovate, apex acute, margin entire,

secondary venation not evident. Cyathia axillary, solitary or few in dense clusters, sessile, glands 4--5 (–7), transversely oblong, slightly cup-shaped with two horns either spreading or ascending, red or yellow, situated on the rim of the involucre; gynophore terminating in 3 triangular calyx-like lobes; ovary glabrous, styles united most of their length into a slender column, undivided; fruit exserted from the involucre, green, red or yellow and red, glabrous, 3-lobed; seeds obovoid, rounded to weakly quadrangular in cross-section, base and apex rounded, smooth to minutely papillate, with a minute discoid caruncle.

Distribution and habitat. – Brazil (Espírito Santo, Bahia, Minas Gerais, Paraíba and Pernambuco); rocky uplands (campos rupestres), grasslands, thorn scrub, and tropical deciduous forest; 300–1250 m.

Species included (4). – *E. attastoma* Rizzini, *E. holochlorina* Rizzini, *E. phosphorea* Mart., *E. sipolisii* N.E. Br.

This section of four species from northeastern Brazil with angled, leafless stems represents the only New World clade comprised entirely of leafless pencil-stem species. The group is easily recognized by the colorful (dark red or yellow), horned cyathial glands. The distinctions among species are mainly of gland color and number of stem angles (Rizzini, 1987; Egli, 1994).

13. *Euphorbia* sect. *Pacifica* B.L. Dorsey, **sect. nov.** □ Type: *Euphorbia plumerioides* Teijsm. ex Hassk.

Monoecious or dioecious herbs, shrubs, or small trees. Stems woody to fleshy, terete, glabrous. Stem leaves alternate, those on fertile branches opposite in *E. boophthona*, persistent to caducous, thin to fleshy, usually petiolate; stipules absent. Synflorescence a subterminal, much branched dichasium or of solitary, axillary cyathia. Cyathia pedunculate; glands (4)5(–11), green, ovate-elliptic, with short marginal processes. Capsules (sub)globose; seeds oblong to ovoid (cylindrical in *E. boophthona*), ecarunculate or carunculate (*E. boophthona*).

Included species (11). – *E. boophthona* C.A. Gardner, *E. brassii* P.I. Forst., *E. buxoides* Radcl.-Sm., *E. haeleleana* Herpst, *E. heyligersiana* P.I. Forst., *E. indistincta* P.I. Forst., *E. kanalensis* Boiss., *E. norfolkiana* Boiss., *E. plumerioides* Teijsm. ex Hassk., *E. sarcostemmioides* J.H. Willis, *E. stevenii* F.M. Bailey.

Distribution and habitat. – Australia, Indonesia, New Guinea, Philippines, and Pacific Islands (Norfolk Island, Fiji, Solomon Islands, Hawaiian Islands); the Australian herbaceous or pencil-stemmed species occur in dry interior or coastal habitats, whereas the remaining species occur in tropical or subtropical moist forests or scrub.

Section *Pacifica* is a novel grouping that has a unique southern Pacific distribution within *Euphorbia*. It contains the *E. plumerioides* complex (Forster, 1994), a group of eight or nine shrubby species which is most diverse in New Guinea. Whether *E. euonymoclada* Croizat belongs here or not is uncertain and will require obtaining molecular data and more specimens of this rarely collected species; it differs from the other members of the *E. plumerioides* complex in its well-developed stipules and single-cyathiate synflorescence. Three quite different-looking species that are endemic to Australia are also included in sect. *Pacifica*, namely *E. boophthona*, *E. stevenii*, and *E. sarcostemmioides*. The first two are herbs, whereas *E. sarcostemmioides* is a leafless pencil-stem shrub. *Euphorbia boophthona* is

morphologically anomalous here, since it has four cyathial glands and seeds with a pronounced caruncle. An unusual species belonging to this group is *E. haeleleana*, which is endemic to several of the Hawaiian Islands; it is a tree species with large, woody fruits and cyathia with up to 11 glands.

14. *Euphorbia* sect. *Pervilleanae* T. Haevermans & X. Aubriot, **sect. nov.** – Type: *Euphorbia pervilleana* Baill.

Usually dioecious prostrate shrubs to trees, non-succulent but with a water storing rootstock; bark smooth to desquamating. Leaves alternate to subopposite, shape variable (linear, lanceolate, elliptic to obovate, scale-like for *E. intisy*); stipules reduced to black gland-like dots. Synflorescences terminal, male synflorescences bear a larger number of cyathia; cyathia usually unisexual, sometimes bisexual; cyathophylls green, inconspicuous, similar to dichasial bracts; glands 4-6, elliptic to bilabiate. Capsules functionally 2(-3) locular, dehiscent or indehiscent, erect, smooth to pubescent, usually bearing ornaments such as wings or spines/tubercles; seeds (1-)2(-3), large (5--10 mm diam.), chestnut-shaped, smooth or tuberculate, ecarunculate.

Distribution – Widespread throughout Madagascar.

Included species (7). – *E. adenopoda* Baillon, *E. analamerae* Leandri, *E. intisy* Drake, *E. pervilleana* Baillon, *E. randrianjohanyi* Haevermans & Labat, *E. rauhii* Haevermans & Labat, *E. tetraptera* Baker.

This group was formerly included in section *Denisophorbia*, to which it is not closely related. The leafless *E. intisy* was previously included in subgenus *Tirucalli* but has been shown to belong instead to sect. *Pervilleanae* (Haevermans 2003).

15. *Euphorbia* sect. *Tirucalli* Boiss. in DC., Prodr. 15(2): 10, 94. 1862. *Euphorbia* subsect. *Tirucalli* (Boiss.) Benth. & Hook.f., Gen. Pl. 3(1): 260. 1880. *Euphorbia* subg. *Tirucalli* (Boiss.) S. Carter, Kew Bull. 40: 823. 1985. – Type: *Euphorbia tirucalli* L.

Arthrothamnus Klotzsch & Garke, Monatsb. Akad. Berlin 1859: 281. 1859, non Rupr. 1848. *Euphorbia* sect. *Arthrothamnus* (Klotzsch & Garke) Boiss. in DC., Prodr. 15(2): 10, 74. 1862. – Lectotype (Millspaugh, 1909: 306): *A. tirucalli* (L.) Klotzsch & Garke (= *Euphorbia tirucalli* L.).

Euphorbia sect. *Armatocalli* Croizat, Webbia 27(1): 180. 1972. – Type: *Euphorbia stenoclada* Baill.

Usually dioecious shrubs to trees. Stems more or less succulent, with alternate or subverticillate branching (dichotomous in *E. carunculifera*), terete (some species have more or less flattened apices, in *E. stenoclada* sterile twig apices turn into spiny processes), bark much delayed, fissured, detaching in plates (smooth), gray-brown. Leaves alternate, early caducous, variable in size and shape depending on the species but never well-developed; pubescence more or less developed (potentially present on every part of the plant); stipules highly reduced, glandular or absent. Synflorescence subterminal (terminal), composed of one or more lateral dichasia, only the terminal cyathia functional; male synflorescences with many more cyathia than the female synflorescences, cyathophylls green, inconspicuous, similar to dichasial bracts; cyathia usually unisexual, glands 5, orbicular to elliptic, convex or concave, green to red, more or less stipitate; female flower pedicillate, perianth remnants constituting a

3-lobed calyx, styles 3, free to base or united partway down, bifid, recurved. Capsule smooth and sometimes pubescent, pendent or erect, 3(4--6)-locular, green or red, orbicular to acutely 3(4--6)-angled, then more or less deeply lobed; seeds 3(4--6), cylindrical to obtusely 4-angled, testa smooth, caruncle present.

Distribution and habitat. – Widespread and most diverse in Madagascar, also native in the Arabian Peninsula (Oman and Yemen, including Socotra) and Africa (Angola, Namibia, Somalia, and South Africa). *Euphorbia tirucalli* is widespread across Africa, but it is not clear what area it is native to (probably Madagascar and southern Africa), and it is widely cultivated in India and in other tropical countries.

Included species (25) – *E. alcicornis* Baker, *E. analalavensis* Leandri, *E. arahaka* Poiss., *E. arbuscula* Balf.f., *E. bariensis* S. Carter, *E. boinensis* Denis ex Humbert & Leandri, *E. carunculifera* L.C. Leach, *E. congestiflora* L.C. Leach, *E. damarana* L.C. Leach, *E. decorsei* Drake, *E. enterophora* Drake, *E. fiherenensis* Poiss., *E. gregaria* Marloth, *E. gummifera* Boiss., *E. imerina* Cremers, *E. kamponii* Rauh & Petignat, *E. mainty* (Poiss.) Denis ex Leandri, *E. neochamaeclada* Bruyns, *E. ramofraga* Denis & Humbert ex Leandri, *E. spissa* M. Thulin, *E. stenoclada* Baill., *E. tirucalli* L., *E. uzmuk* S. Carter & J.R.I. Wood, *E. xylophylloides* Brongn. ex Lem.

16. *Euphorbia* sect. *Rubellae* B.L. Dorsey, **sect. nov.** – Type: *Euphorbia rubella* Pax

Monoecious geophytes. Root a subglobose to cone-shaped tuber or fibrous. Stems reduced and underground, tuberculate. Leaves elliptic in rosette at ground level, long petiolate (2--6 cm); stipules threadlike or absent. Synflorescence subapical, produced before leaves emerge or with them, peduncle 2--11 cm long, more or less branched cyathophylls orbicular-ovate, fused dorsally in *E. cryptocaulis*; cyathia sessile, glands 4 + 2 due to one being divided, oblong-elliptic, red or yellow; ovary exserted, oblong, smooth. Capsule long-exserted, oblong-ovoid; seeds ovoid, tuberculate, caruncle present.

Distribution and habitat – Eastern Africa (Sudan, Ethiopia, Kenya, Uganda); open sites in limestone crevices on well-drained soil, or under bushes in evergreen or deciduous bushland.

Included species (3) - *E. brunellii* Chiov., *E. cryptocaulis* M. Gilbert, *E. rubella* Pax

This group of three geophytes from northeast Africa is unique in its cyathial gland morphology having 4 equal-sized glands and 2 smaller ones produced by the division of a single gland. Geophytes are present in several sections of subg. *Euphorbia*, but this character makes this restricted and small group easily recognizable. Bally (1967) considered *E. brunellii* a variety of *E. rubella*, but Gilbert (1995) treated them as separate species citing distinct root morphology, leaf size, cyathophyll shape, and capsule shape. We follow Gilbert (1995) and note that both the *ndhF* and ITS sequences differ more between these two species than between many other accepted species pairs in subg. *Euphorbia*.

17. *Euphorbia* sect. *Denisophorbia* (Leandri) Croizat, *Webbia* 27(1): 165. 1972. *Euphorbia* sect. *Euphorbium* sect. *Denisophorbia* Leandri, *Bull. Soc. Bot. France* 104: 500. 1957. □
Type: *Euphorbia pyrifolia* Lam.

Monoecious or dioecious (sub)shrubs or trees, some forming a caudex. Stems more or less succulent, of two types – long shoots that terminate in brachyblasts which bear leaves and

cyathia subterminally and an axillary bud from which new long shoots arise; bark smooth, dull to shiny. Leaves spiral, present only at extremities of branches, deciduous to persistent, soft to coriaceous (sometimes slightly succulent); stipules reduced to glandular dots. Synflorescences subterminal on brachyblasts, bearing a various number of cyathia; cyathophylls 2, scarious to developed and showy, green to yellow; glands (4)5(6), oval to kidney-shaped, green-yellow or pink. Capsule dehiscent, 3-locular, erect, smooth, angled; seeds smooth, caruncle absent.

Distribution – Madagascar, Mayotte and Comoro Islands, Seychelles, Mauritius.

Included species (13). – *E. ankaranae* Leandri, *E. aprica* Baillon, *E. boivinii* Boissier, *E. bongolavensis* Rauh, *E. elliotii* Leandri, *E. hedyotoides* N.E. Br., *E. mahabobokensis* Rauh, *E. mangorensis* Leandri, *E. martinae* Rauh, *E. physoclada* Boissier, *E. pyrifolia* Lam., *E. rangovalensis* Leandri, *E. zakamenae* Leandri.

This section is treated here in a more limited sense than Leandri's original circumscription of subsect. *Denisophorbia*. It includes a group of species from Madagascar and other islands of the Indian Ocean that have a *Terminalia*-type of sympodial branching, with long arching branches ending in short brachyblasts that bear the leaves and cyathia. Growth then continues via lateral buds that produce another long shoot and then a terminal short shoot. They also have angular capsules and smooth seeds that differentiate them from some similar-looking species in sect. *Goniostema*, which have rounder capsules and bumpy seeds. Several undescribed species from Madagascar that possess the characteristic morphology of sect. *Denisophorbia* were included in our analyses and were shown to belong in this section. More revisionary work is needed to better circumscribe this section.

18. *Euphorbia* sect. *Deuterocalli* Croizat, *Webbia* 27(1): 179. 1972. *Euphorbia* subg. *Euphorbia* subsect. *Deuterocalli* (Croizat) Bruyns, *Taxon* 55: 415. 2006. – Type: *Euphorbia oncoclada* Drake (= *Euphorbia alluaudii* subsp. *oncoclada* (Drake) F. Friedmann & Cremers).

Dioecious shrubs or small trees. Stems succulent, (alternating between long shoot and brachyblast morphology in one subspecies), terete; bark gray, smooth, much delayed. Leaves alternate, soon deciduous, reduced to scales or lanceolate and petiolate; stipules modified as a waxy or glandular ring around the leaf insertion. Synflorescence lateral (subterminal), male cyathia usually more numerous; cyathophylls inconspicuous, green (identical to dichasial bracts); cyathia pedunculate; glands 5, elliptical, green-yellow. Capsules dehiscent, erect, 3-locular, green, smooth, with ridges tinted with purple; seeds 3, smooth, ecarunculate.

Distribution – Widespread in Madagascar, mostly in dry scrub or among rocks in moister habitats.

Included species (3). – *E. alluaudii* Drake (two subspecies), *E. cedrorum* Rauh & Hebding, *E. famatamboay* Friedmann & Cremers.

This is a well-supported clade and it contains three species of trees that were previously grouped with *E. tirucalli* because of their leafless, pencil-stem growth form and dioecy. However, they differ from sect. *Tirucalli* in their thicker, more jointed stems, stipules that form glandular or waxy rings around the leaf scars, and ecarunculate seeds. *Euphorbia alluaudii* is treated here to include *E. leucodendron* Drake as well as *E. oncoclada* Drake.

19. *Euphorbia* sect. *Goniostema* Baill. ex Boiss. in DC., Prodr. 15(2): 10, 77. 1862. – Lectotype (Wheeler, 1943: 485): *Euphorbia lophogona* Lam.

Lacanthis Raf., Fl. Telluriana 2: 94. 1837. *Euphorbia* subg. *Lacanthis* (Raf.) M. Gilbert, Kew Bull. 42: 238. 1987. – Type: *Lacanthis splendens* (Bojer) Raf. (= *E. milii* Des Moulins).

Euphorbia sect. *Diacanthium* Boiss. in DC., Prodr. 15 (2): 10, 78. 1862. – Lectotype (Wheeler, 1943: 485): *Euphorbia splendens* Bojer (= *Euphorbia milii* Des Moulins).

Sterigmanthe Klotzsch & Garcke, Monatsber. Königl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin 1859: 252. 1859. – Lectotype (Wheeler, 1943: 472): *Euphorbia splendens* Bojer (= *Euphorbia milii* Des Moulins).

Euphorbia sect. *Rhizanthopsis* Croizat, Webbia 27(1): 178. 1972. – Type: *Euphorbia francoisii* Leandri.

Monoecious, prostrate geophytes, shrubs, or trees. Stems more or less succulent, branching or not; bark smooth, gray. Leaves, alternate, persistent or deciduous; shape highly variable; succulent in some taxa; petiole cylindrical or winged; stipular structures from gland-like to spines, individual or gathered in vertical comb-like structures, some branching, glabrous to pubescent. Synflorescences lateral (subterminal), of a variable number cyathia (in some taxa, axillary buds can develop the inflorescence further by producing new cyathia); cyathophylls 2 per cyathium, usually well-developed and usually brightly coloured, usually distinct from synflorescence bracts; cyathia bisexual, protandrous or protogynous; glands (4-)5(-6), shape variable, spreading or enveloping the involucre. Capsule dehiscent, smooth, erect, 3-locular; seeds 3, verrucous, caruncle absent.

Distribution and habitat – Widespread across the island of Madagascar; in a wide variety of habitats.

Included species (75) – *E. alfredii* Rauh, *E. ambarivatoensis* Rauh & Bard.-Vauc., *E. ambovombensis* Rauh & Razaf., *E. analavelonensis* Rauh & Mangelsdorff, *E. ankarensis* Boiteau, *E. ankazobensis* Rauh & Hofstätter, *E. annamarieae* Rauh, *E. aureoviridiflora* (Rauh) Rauh, *E. banae* Rauh, *E. beharensis* Leandri, *E. berevoensis* Lawant & Buddens., *E. berorohae* Rauh & Hofstätter, *E. biaculeata* Denis, *E. boissieri* Baill., *E. boiteaui* Leandri, *E. brachyphylla* Denis, *E. bulbispina* Rauh & Razaf., *E. capmanambatoensis* Rauh, *E. capuronii* Ursch & Leandri, *E. caput-aureum* Denis, *E. cremersii* Rauh & Razaf., *E. croizatii* Leandri, *E. cylindrifolia* Marn.-Lap. & Rauh, *E. decaryi* Guillaumin, *E. delphinensis* Ursch & Leandri, *E. denisiana* Guillaumin, *E. didiereoides* Denis ex Leandri, *E. duranii* Ursch & Leandri, *E. erythroculata* Mangelsdorff, *E. fianarantsoae* Ursch & Leandri, *E. francoisii* Leandri, *E. genoudiana* Ursch & Leandri, *E. geroldii* Rauh, *E. gottlebei* Rauh, *E. guillauminiana* Boiteau, *E. hermanschwartzii* Rauh, *E. hexadenia* Denis, *E. hofstaetteri* Rauh, *E. horombensis* Ursch & Leandri, *E. iharanae* Rauh, *E. isalensis* Leandri, *E. itremensis* Kimnach & Lavranos, *E. kondoi* Rauh & Razaf., *E. labatii* Rauh & Bard.-Vauc., *E. leuconeura* Boiss., *E. lophogona* Lam., *E. mahafalensis* Denis, *E. mainiana* Poiss., *E. mangelsdorffii* Rauh, *E. mangokyensis* Denis, *E. milii* Des Moul., *E. millotii* Ursch & Leandri, *E. moratii* Rauh, *E. neobosseri* (Rauh) Rauh, *E. neohumbertii* Boiteau, *E. pachypodioides* Boiteau, *E. parvicyathophora* Rauh, *E. paulianii* Ursch & Leandri, *E. pedilanthoides* Denis, *E. perrieri* Drake, *E. primulifolia* Baker, *E. quartziticola* Leandri, *E. razafindratsirae* Lavranos, *E. razafinjohanyi* Ursch & Leandri, *E. retrospina* Rauh & Gerold, *E. robivelonae* Rauh, *E. rossii* Rauh & Buchloh, *E. sakarahaensis* Rauh, *E. suzannae-marnierae* Rauh & Pétignat, *E. tardieuana* Leandri, *E. thuarsiana* Baill.,

E. tsimbazazae Leandri, *E. tulearensis* (Rauh) Rauh, *E. viguieri* Denis, *E. waringiae* Rauh & Gerold

Discussion. – Bruyns et al. (2006) circumscribed this section to include the entire Old World Clade II, but here we limit it to a more restricted clade containing the type, *E. lophogona*, and other species characterized by colorful cyathophylls. Sect. *Goniostema* is the largest clade in subg. *Euphorbia* on Madagascar and occurs throughout the island in diverse habitats. It is also a morphologically diverse clade including understory trees and shrubs in the more moist habitats (e.g. *E. geroldii*), spiny xerophytic or succulent shrubs and dwarfs from more arid habitats (*E. milii* complex), and geophytes in fire-prone regions and unique substrates (e.g. *E. primulifolia* and *E. quartzicola*).

20. *Euphorbia* sect. *Monadenium* (Pax) Bruyns, Taxon 55: 411. 2006. *Monadenium* Pax, Bot. Jahrb. Syst. 19: 12 (1894). – Type: *Monadenium coccineum* Pax. (= *Euphorbia neococcinea* Bruyns).

Synadenium Boiss. in DC., Prodr. 15 (2): 187. 1862. – Type: *Synadenium arborescens* Boiss. (= *Euphorbia cupularis* Boiss.).

Stenadenium Pax, Bot. Jahrb. Syst. 30: 343. 1901. – Type: *Stenadenium spinescens* Pax (= *Euphorbia spinescens* (Pax) Bruyns).

Endadenium L.C. Leach, Garcia de Orta 1: 31. 1973. – Type: *Endadenium gossweileri* (N.E. Br.) L.C. Leach (= *Euphorbia neogossweileri* Bruyns).

Monoecious geophytes, herbs, shrubs, or trees. Stems terete to angled, +/- fleshy to succulent. Leaves fleshy, stipules apparently absent or modified as spines or glands. Synflorescence axillary cymes to single cyathia cyathophylls conspicuous, persistent, partly united along one edge then partly surrounding involucre or free; cyathia sessile; glands united into a horseshoe or ring that surrounds 5 involucre lobes. Capsules 3-lobed, dehiscent, exerted (through notch in gland ring if present); seeds oblong, carunculate.

Distribution and habitat. – Eastern, central, and southeastern tropical Africa; in a variety of mostly arid habitats, from thickets, rock outcrops, and other open areas.

Included species (89). – *E. bianoensis* (Malaisse & Lecron) Bruyns, *E. bicompecta* Bruyns, *E. biselegans* Bruyns, *E. bisellenbeckii* Bruyns, *E. bisglobosa* Bruyns, *E. bodenghieniae* (Malaisse & Lecron) Bruyns, *E. catenata* Bruyns, *E. chevalieri* Bruyns, *E. clarae* (Malaisse & Lecron) Bruyns, *E. crenata* (N.E. Br.) Bruyns, *E. cupricola* (Malaisse & Lecron) Bruyns, *E. descampsii* (Pax) Bruyns, *E. dilunguensis* (Malaisse & Lecron) Bruyns, *E. discoidea* (P.R.O. Bally) Bruyns, *E. echinulata* (Stapf) Bruyns, *E. filiformis* (P.R.O. Bally) Bruyns, *E. friesii* (N.E. Br.) Bruyns, *E. fwambensis* (N.E. Br.) Bruyns, *E. gammaranoi* G.Will., *E. gladiata* (P.R.O. Bally) Bruyns, *E. guentheri* (Pax) Bruyns, *E. hedigeriana* (Malaisse & Lecron) Bruyns, *E. herbacea* (Pax) Bruyns, *E. heteropoda* Pax, *E. iancannellii* Bruyns, *E. invenusta* (N.E. Br.) Bruyns, *E. kimberleyana* (G. Will.) Bruyns, *E. kirkii* (N.E. Br.) Bruyns, *E. kundelunguensis* (Malaisse) Bruyns, *E. letestuana* (Denis) Bruyns, *E. letouzeyana* (Malaisse) Bruyns, *E. lindenii* (S. Carter) Bruyns, *E. lugardiae* (N.E. Br.) Bruyns, *E. mafingensis* (Hargreaves) Bruyns, *E. magnifica* (E.A. Bruce) Bruyns, *E. major* (Pax) Bruyns, *E. mamfwensis* (Malaisse & Lecron) Bruyns, *E. maryrichardsiae* G.Will., *E. neoangolensis* Bruyns, *E. neoarborescens* Bruyns, *E. neocapitata* Bruyns, *E. neococcinea* Bruyns, *E. neocrispa* Bruyns, *E. neocymosa* Bruyns, *E. neogilletii* Bruyns, *E. neoglabrata*

Bruyns, *E. neoglaucescens* Bruyns, *E. neogoetzei* Bruyns, *E. neogossweileri* Bruyns, *E. neogracilis* Bruyns, *E. neohalipedicola* Bruyns, *E. neokaessneri* Bruyns, *E. neomontana* Bruyns, *E. neoparviflora* Bruyns, *E. neopedunculata* Bruyns, *E. neoreflexa* Bruyns, *E. neorubella* Bruyns, *E. neorugosa* Bruyns, *E. neospinescens* Bruyns, *E. neostolonifera* Bruyns, *E. neovirgata* Bruyns, *E. orobanchoides* (P.R.O. Bally) Bruyns, *E. pereskiifolia* Houillet ex Baill., *E. pseudohirsuta* Bruyns, *E. pseudolaewisii* Bruyns, *E. pseudomollis* Bruyns, *E. pseudonudicaulis* Bruyns, *E. pseudopetiolata* Bruyns, *E. pseudoracemosa* (P.R.O. Bally) Bruyns, *E. pseudosimplex* Bruyns, *E. pseudostellata* Bruyns, *E. pseudotrinervis* Bruyns, *E. pseudovolkensii* Bruyns, *E. pudibunda* (P.R.O. Bally) Bruyns, *E. renneyi* (S. Carter) Bruyns, *E. rhizophora* (P.R.O. Bally) Bruyns, *E. ritchiei* (P.R.O. Bally) Bruyns, *E. schaijesii* (Malaisse) Bruyns, *E. schubei* Pax, *E. shebeliensis* (M.Gilbert) Bruyns, *E. spectabilis* (S. Carter) Bruyns, *E. spinulosa* (S. Carter) Bruyns, *E. succulenta* (Schweickerdt) Bruyns, *E. syncalycina* Bruyns, *E. syncameronii* Bruyns, *E. torrei* (L.C. Leach) Bruyns, *E. triangolensis* Bruyns, *E. umbellata* (Pax) Bruyns, *E. yattana* (P.R.O. Bally) Bruyns.

Sect. *Monadenium* corresponds to the genera of *Monadenium*, *Synadenium*, and *Endadenium* which were previously segregated from *Euphorbia* based on modifications of the cyathial glands – fused into a ring in *Endadenium* and *Synadenium* or into a horseshoe shape in *Monadenium*. These modified gland structures continue to be phylogenetically informative, as the former *Synadenium* and *Endadenium* species group closely together, though it is clear that these species have evolved their distinctive morphology within a broader *Euphorbia* (Steinmann & Porter, 2002; Bruyns & al., 2006; Zimmermann & al., 2010). These species can also be distinguished by their reduced caruncle relative to the distinctive one of most other species in the section. Sect. *Monadenium* is another example of the lability of growth form evolution in subg. *Euphorbia*, since it contains nearly every form, including xerophytes, present throughout the subgenus. Many species also bear spine-like structures of various forms that support their close relationship to both sect. *Goniostemma* and sect. *Euphorbia*, although the homology of the “spines” in these three sections is not fully established.

21. *Euphorbia* sect. *Euphorbia* – Lectotype (Millspaugh 1909: 306): *Euphorbia antiquorum* L.

Elaeophorbia Stapf in Johnst., Liberia 2: 646. 1906. – Type: *Elaeophorbia drupifera* (Thonn.) Stapf (= *Euphorbia drupifera* Thonn.).

Euphorbia subg. *Tithymalus* Pers., Syn. Pl. 2: 10. 1806, non Gaertn. (1790). – Lectotype (Wheeler, 1943: 484): *Euphorbia antiquorum* L.

Euphorbia sect. *Aculeatae* Haw., Philos. Mag. & Ann. Philos., n.s., 1: 275. 1827. – Type: *Euphorbia caeruleascens* Haw.

Euphorbia sect. *Cereis* Webb & Berthelot, Hist. Nat. Iles Canaries 2(3): 255. 1847. – Type: *Euphorbia canariensis* L.

Euphorbia sect. *Tekeanae* Croizat, Bull. Jard. Bot. Brux. 15: 119. 1938. – Type: *Euphorbia teke* Schweinf.

Euphorbia sect. *Ballyeuphorbia* Croizat, Webbia 27(1): 181. 1972. – Type: *Euphorbia decidua* P.R.O. Bally & L.C. Leach.

Monoecious geophytes, shrubs or trees. Stems succulent, green, photosynthetic (some species forming bark in older stems), winged, angled or tuberculate. Leaves opposite, usually

minute, caducous but large and persistent in some tree species; stipules apparently modified as spines (rarely fused) and borne on a “spine shield” subtending or surrounding the leaf that can also bear a second pair of spines. Synflorescence axillary, simple (compound); dichasia of usually three cyathia; cyathophylls inconspicuous; peduncles usually short; cyathia bisexual; glands 5, entire, typically elliptical, yellow to red; female flower pedicellate, exerted or not, pedicel recurved or not. Capsules 3-locular, globose to deeply acutely lobed, in a few species somewhat fleshy and indehiscent; seeds subglobose to ovoid, smooth to minutely tuberculate, caruncle absent.

Distribution and habitat. – Widespread throughout most of Africa, the Arabian Peninsula, and in southern Asia from Pakistan to Malaysia, Indonesia and Papua New Guinea; in a wide variety of habitats, but especially in arid landscapes, open areas, dry forests, scrub, rock outcrops, and some species in moist forests.

Species included (345). – *E. abdelkuri* Balf.f., *E. abyssinica* J.F. Gmel., *E. acervata* S. Carter, *E. actinoclada* S. Carter, *E. adjurana* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. aeruginosa* Schweick., *E. ambacensis* N.E. Br., *E. ambroseae* L.C. Leach, *E. amicorum* S. Carter, *E. ammak* Schweinf., *E. ammophila* S. Carter & Dioli, *E. amplophylla* Pax, *E. angularis* Klotzsch, *E. angustiflora* Pax, *E. antiquorum* L., *E. asthenacantha* S. Carter, *E. atrocarmesina* L.C. Leach, *E. atroflora* S. Carter, *E. atrox* F.K. Horw. ex S. Carter, *E. avasmontana* Dinter, *E. awashensis* M.G. Gilbert, *E. бага* A.Chev., *E. baioensis* S. Carter, *E. baleensis* M.G. Gilbert, *E. ballyana* Rauh, *E. ballyi* S. Carter, *E. baradii* S. Carter, *E. barnardii* A.C. White, R.A. Dyer & B. Sloane, *E. baylissii* L.C. Leach, *E. beillei* A. Chev., *E. bertemariae* Bisseret & Dioli, *E. biharamulensis* S. Carter, *E. bitataensis* M.G. Gilbert, *E. borenensis* M.G. Gilbert, *E. bougheyi* L.C. Leach, *E. breviarticulata* Pax, *E. brevis* N.E. Br., *E. brevitorta* P.R.O. Bally, *E. burgeri* M.G. Gilbert, *E. buruana* Pax, *E. bussei* Pax, *E. bwambensis* S. Carter, *E. cactus* Ehrenb. ex Boiss., *E. caducifolia* Haines, *E. caeruleascens* Haw., *E. caloderma* S. Carter, *E. canariensis* L., *E. candelabrum* Trémaux ex Kotschy, *E. cannellii* L.C. Leach, *E. carteriana* P.R.O. Bally, *E. cataractarum* S. Carter, *E. cattimandoo* Elliot ex Wight, *E. classenii* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. clavigera* N.E. Br., *E. clivicola* R.A. Dyer, *E. coeruleans* Pax, *E. collenetteae* D. Al-Zahrani & El-Karemy, *E. colubrina* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. columnaris* P.R.O. Bally, *E. complanata* Warb., *E. complexa* R.A. Dyer, *E. confinalis* R.A. Dyer, *E. conspicua* N.E. Br., *E. contorta* L.C. Leach, *E. cooperi* N.E. Br. ex A. Berger, *E. corniculata* R.A. Dyer, *E. cryptospinosa* P.R.O. Bally, *E. cuneneana* L.C. Leach, *E. cuprispina* S. Carter, *E. cupularis* Boiss., *E. curvirama* R.A. Dyer, *E. cussonioides* P.R.O. Bally, *E. dalettiensis* M.G. Gilbert, *E. darbandensis* N.E. Br., *E. dasyacantha* S. Carter, *E. dauana* S. Carter, *E. dawei* N.E. Br., *E. debilisipina* L.C. Leach, *E. decidua* P.R.O. Bally & L.C. Leach, *E. decliviticola* L.C. Leach, *E. dedzana* L.C. Leach, *E. deightonii* Croizat, *E. dekindtii* Pax, *E. demissa* L.C. Leach, *E. densispina* S. Carter, *E. desmondii* Keay & Milne-Redh., *E. dichroa* S. Carter, *E. discrepans* S. Carter, *E. dispersa* L.C. Leach, *E. dissitisipina* L.C. Leach, *E. distinctissima* L.C. Leach, *E. drupifera* Thonn., *E. dumeticola* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. eduardoi* L.C. Leach, *E. eilensis* S. Carter, *E. elegantissima* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. ellenbeckii* Pax, *E. enormis* N.E. Br., *E. epiphylloides* Kurz, *E. erigavensis* S. Carter, *E. erlangeri* Pax, *E. evansii* Pax, *E. excelsa* A.C. White, R.A. Dyer & B. Sloane, *E. exilisipina* S. Carter, *E. eyassiana* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. fanshawei* L.C. Leach, *E. fascicaulis* S. Carter, *E. faucicola* L.C. Leach, *E. fissispina* P.R.O. Bally & S.

Carter, *E. fluminis* S. Carter, *E. forolensis* L.E. Newton, *E. fortissima* L.C. Leach, *E. fractiflexa* S. Carter & J.R.I. Wood, *E. franckiana* A. Berger, *E. frankii* Lavranos, *E. fruticosa* Forssk., *E. furcata* N.E. Br., *E. fusiformis* Buch.-Ham. ex D. Don, *E. galgalana* S. Carter, *E. garuana* N.E. Br., *E. geldorensis* S. Carter, *E. gemmea* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. gillettii* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. glochidiata* Pax, *E. godana* Buddens., Lawant & Lavranos, *E. gracilicaulis* L.C. Leach, *E. graciliramea* Pax, *E. grandialata* R.A. Dyer, *E. grandicornis* Goebel ex N.E. Br., *E. grandidens* Haw., *E. grandifolia* Haw., *E. graniticola* L.C. Leach, *E. greenwayi* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. greuteri* N. Kilian, Kürschner & P. Hein, *E. griseola* Pax, *E. groenewaldii* R.A. Dyer, *E. gymnocalycioides* M.G. Gilbert & S. Carter, *E. halipedicola* L.C. Leach, *E. handiensis* Burchard, *E. heterochroma* Pax, *E. heterospina* S. Carter, *E. hiernii* (Croizat) Oudejans, *E. holmesiae* Lavranos, *E. horwoodii* S. Carter & Lavranos, *E. hottentota* Marloth, *E. hubertii* Pax, *E. imitata* N.E. Br., *E. immersa* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. imparispina* S. Carter, *E. inaequispina* N.E. Br., *E. inarticulata* Schweinf., *E. inculta* P.R.O. Bally, *E. ingens* E. Mey. ex Boiss., *E. ingenticapsa* L.C. Leach, *E. inundaticola* L.C. Leach, *E. isacantha* Pax, *E. johannis* S. Carter, *E. jubata* L.C. Leach, *E. kalisana* S. Carter, *E. kamerunica* Pax, *E. kaokoensis* (A.C. White, R.A. Dyer, & B. Sloane) L.C. Leach, *E. keithii* R.A. Dyer, *E. khandallensis* Blatt. & Hallb., *E. knobelii* Letty, *E. knuthii* Pax, *E. lacei* Craib, *E. lactea* Haw., *E. laikipiensis* S. Carter, *E. ledienii* A. Berger, *E. lenewtonii* S. Carter, *E. leontopoda* S. Carter, *E. letestui* J. Raynal, *E. limpopoana* L.C. Leach ex S. Carter, *E. lividiflora* L.C. Leach, *E. longispina* Chiov., *E. louwii* L.C. Leach, *E. luapulana* L.C. Leach, *E. lukoseana* S. Carter, *E. lydenburgensis* Schweick. & Letty, *E. madinahensis* Fayed & D. Al-Zahrani, *E. magnicapsula* S. Carter, *E. makallensis* S. Carter, *E. malevola* L.C. Leach, *E. margaretae* S. Carter, *E. marrupana* Bruyns, *E. marsabitensis* S. Carter, *E. mayuranathanii* Croizat, *E. meenae* S. Carter, *E. memorialis* R.A. Dyer, *E. meridionalis* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. michaelii* Thulin, *E. micracantha* Boiss., *E. migiurtinorum* Chiov., *E. mitriformis* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. mlanjeana* L.C. Leach, *E. momccoyae* Lavranos, *E. monacantha* Pax, *E. monadenioides* M.G. Gilbert, *E. mosaica* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. multiclava* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. mwinilungensis* L.C. Leach, *E. myrioclada* S. Carter, *E. namuliensis* Bruyns, *E. nana* Royle, *E. neriiifolia* L., *E. nicholasii* Oudejans, *E. nigrispina* N.E. Br., *E. nigrispinoides* M.G. Gilbert, *E. nivulia* Buch.-Ham., *E. nubigena* L.C. Leach, *E. nyassae* Pax, *E. nyikae* Pax ex Engl., *E. obconica* Bojer ex N.E. Br., *E. obovalifolia* A. Rich., *E. odontophora* S. Carter, *E. officinalis* Forssk., *E. officinarum* L., *E. oligoclada* L.C. Leach, *E. opuntiioides* Welw. ex Hiern, *E. otjingandu* Swanepoel, *E. otjipembana* L.C. Leach, *E. paganorum* A. Chev., *E. parciramulosa* Schweinf., *E. parviceps* L.C. Leach, *E. patentispina* S. Carter, *E. perangusta* R.A. Dyer, *E. perarmata* S. Carter, *E. perplexa* L.C. Leach, *E. persistentifolia* L.C. Leach, *E. pervittata* S. Carter, *E. petraea* S. Carter, *E. petricola* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. phillipsiae* N.E. Br., *E. phillipsioides* S. Carter, *E. piceoides* Thulin, *E. piscidermis* Gilbert, *E. platyrrhiza* L.C. Leach, *E. plenispina* S. Carter, *E. poissonii* Pax, *E. polyacantha* Boiss., *E. ponderosa* S. Carter, *E. proballyana* L.C. Leach, *E. prona* S. Carter, *E. pseudoburuana* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. pseudocactus* A. Berger, *E. pteroclada* L.C. Leach, *E. qarad* Deflers, *E. quadrangularis* Pax, *E. quadrialata* Pax, *E. quadrilatera* L.C. Leach, *E. quadrispina* S. Carter, *E. quinquecostata* Volkens, *E. ramipressa* Croizat, *E. ramulosa* L.C. Leach, *E. reclinata* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. reptans* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. resinifera* O.

Berg, *E. restricta* R.A. Dyer, *E. richardsiae* L.C. Leach, *E. ridleyi* Croizat, ***E. robecchii*** Pax, *E. rowlandii* R.A. Dyer, *E. royleana* Boiss., *E. rubrispinosa* S. Carter, *E. rubromarginata* L.E. Newton, *E. rugosiflora* L.C. Leach, *E. samburuensis* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. santapau* A.N. Henry, ***E. sapinii*** De Wild., *E. saudiarabica* Fayed & D. Al-Zahrani, *E. saxorum* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. scarlatina* S. Carter, *E. schinzii* Pax, *E. schizacantha* Pax, *E. schmitzii* L.C. Leach, *E. scitula* L.C. Leach, *E. sebsebei* M.G. Gilbert, ***E. seibanica*** Lavranos & Gifri, ***E. sekukuniensis*** R.A. Dyer, *E. semperflorens* L.C. Leach, *E. septentrionalis* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. sepulta* P.R.O. Bally & S. Carter, *E. serendipita* L.E. Newton, *E. seretii* De Wild., *E. sessiliflora* Roxb., *E. setispina* S. Carter, *E. similiramea* S. Carter, *E. songweana* S. Carter, *E. speciosa* L.C. Leach, *E. spiralis* Balf.f., *E. stapfii* A. Berger, ***E. stellata*** Willd., *E. stenocaulis* Bruyns, *E. strangulata* N.E. Br., *E. subsalsa* Hiern, *E. subscandens* P.R.O. Bally & S. Carter, ***E. sudanica*** A. Chev., *E. sumati* S. Carter, *E. susan-holmesiae* Binojkumar & Gopalan, *E. taifensis* Fayed & D. Al-Zahrani, ***E. tanaensis*** P.R.O. Bally & S. Carter, *E. taruensis* S. Carter, *E. teixeirae* L.C. Leach, ***E. teke*** Schweinf. ex Pax, *E. tellieri* A. Chev., *E. tenuirama* Schweinf. ex A. Berger, *E. tenuispinosa* Gilli, *E. tescorum* S. Carter, *E. tetracantha* Rendle, *E. tetracanthoides* Pax, ***E. tetragona*** Haw., *E. tholicola* L.C. Leach, *E. tisserantii* A. Chev. & Sillans, *E. torta* Pax & K. Hoffm., *E. tortilis* Rottler ex Ainslie, *E. tortirama* R.A. Dyer, *E. tortistyla* N.E. Br., *E. triaculeata* Forssk., ***E. triangularis*** Desf. ex A. Berger, *E. trigona* Mill., *E. turbiniformis* Chiov., *E. turkanensis* S. Carter, *E. uhligiana* Pax, *E. umbonata* S. Carter, *E. umfoloziensis* Peckover, *E. undulatifolia* Janse, *E. unicornis* R.A. Dyer, ***E. unispina*** N.E. Br., ***E. vajravelui*** Binojk. & N.P. Balakr., *E. vallaris* L.C. Leach, *E. vandermerwei* R.A. Dyer, *E. venenata* Marloth, ***E. venenifica*** Tremaux ex Kotschy, *E. venteri* L.C. Leach ex R.H. Archer & S. Carter, *E. viduiflora* L.C. Leach, *E. virosa* Willd., *E. vittata* S. Carter, *E. volkmanniae* Dinter, *E. vulcanorum* S. Carter, *E. wakefieldii* N.E. Br., *E. waterbergensis* R.A. Dyer, *E. whellanii* L.C. Leach, *E. williamsonii* L.C. Leach, *E. xylacantha* Pax, *E. zoutpansbergensis* R.A. Dyer.

Sect. *Euphorbia* is the largest and one of the most characteristic groups in subg. *Euphorbia*. The defining character for this clade is the spine shield – a horny pad of tissue subtending or surrounding each leaf base that typically bears two or four spiny outgrowths. These outgrowths are usually interpreted as a pair of stipular spines and a pair of prickles (Carter, 1994). The vast majority of species in sect. *Euphorbia* have spine shields, but in a few species they have been lost (e.g. *E. piscidermis*). Species recognition and circumscription in this group can be very difficult, and new species are continually being proposed as botanists explore new or even previously explored areas.

Acknowledgements

The authors would like to thank R. Becker, A. Moller, and the Missouri Botanical Garden for facilitating field work. We thank R. Becker, A. Moller, A. Mass, P. Forster, P. Carrillo-Reyes, J.W. Horn, B.W. van Ee, K.J. Wurdack, Y. Yang and especially R. Webb and T. Yocum at Arid Lands Greenhouses, Tucson, AZ for generously providing plant material. We are grateful to the curators and staff at BRI, MEL, MICH, MO, and P for allowing us to examine and sample from their collections. We also thank S. Pereira, H. Draheim, B.S. Wagner, and B. Oyserman for help with lab work and J.A. Peirson and Y. Yang for invaluable advice and help with revising the manuscript. This work was funded by National Science Foundation through

a Planetary Biodiversity Inventory Grant (DEB-0616533) and a National Geographic Society award to PEB, a Winifred B. Chase Fellowship from the UM Matthaei Botanical Garden, a Rackham Graduate School Research Grant, and a UM EEB Block Grant to BLD.

REFERENCES

- Bally, P.R.O.** 1967. Miscellaneous notes on the flora of Tropical East Africa including description of new taxa, 35--37. *Canollea* 22:255--263.
- Barres, L., Vilatersana, R., Molero, J., Susanna, A., & Galbany-Casals, M.** 2011. Molecular phylogeny of *Euphorbia* subg. *Esula* sect. *Aphyllis* (Euphorbiaceae) inferred from nrDNA and cpDNA markers with biogeographic insights. *Taxon* 60:705--720.
- Boissier, E.** 1862. Euphorbieae. Pp. 3--188 in: de Candolle, A. (ed), *Prodromus Systemis Naturalis*. Paris: Victor Mason and Fils.
- Bruyns, P.V., Klak, C., & Hanacek, P.** 2011. Age and diversity in Old World succulent species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Taxon* 60:1717--1733.
- Bruyns, P.V., Mapaya, R.J., & Hedderson, T.** 2006. A new subgeneric classification for *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in southern Africa based on ITS and *psbA-trnH* sequence data. *Taxon* 55:397--420.
- Cacho, N.I., Berry, P.E., Olson, M.E., Steinmann, V.W., & Baum, D.A.** 2010. Are spurred cyathia a key innovation? Molecular systematics and trait evolution in the slipper spurges (Pedilanthus clade: *Euphorbia*, Euphorbiaceae). *Am. J. Bot.* 97:493--510.
- Carter, S.** 1994. A preliminary classification of *Euphorbia* subgenus *Euphorbia*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81:368--379.
- Dressler, R.L.** 1957. The genus *Pedilanthus*. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University* 182:1--188.
- Edgar, R.C.** 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32:1792--1797.
- Edwards, E.J., & Donoghue, M.J.** 2006. *Pereskia* and the origin of the cactus life-form. *American Naturalist* 167:777--793.
- Eggl, U.** 1994. Xerophytic euphorbias from Brazil. *The Euphorbia Journal* 9:11--23.
- Euphorbia: A global inventory of the spurges. Last updated December 2011
www.euphorbiaceae.org
- Forster, P.I.** 1994. Revision of *Euphorbia plumerioides* Tejasm. ex Hassk. (Euphorbiaceae) and allies. *Austrobaileya* 4:245--264.
- Gilbert, M.G.** 1987. Two new geophytic species of *Euphorbia* with comments on the subgeneric groupings of its African members. *Kew Bulletin* 42:231--244.
- Gilbert, M.G.** 1995. Euphorbiaceae. Pp. 265--380 in: Edwards, Sue, Tadesse, Mesfin, & Hedberg, Inga (eds), *Flora of Ethiopia and Eritrea*. Uppsala and Addis Ababa: Addis Ababa University and Uppsala University.
- Haevermans, T.** 2003. *Le genre Euphorbia à Madagascar: phylogénie moléculaire et systématique*. Dissertation, Muséum National d'Histoire Naturelle

- Haevermans, T., Hoffmann, P., Lowry, P.P., Labat, J.N., & Randrianjohany, E.** 2004. Phylogenetic analysis of the Madagascan *Euphorbia* subgenus *Lacanthis* based on ITS sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 91:247--259.
- Haevermans, T., & Labat, J.-N.I.** 2004. A synoptic revision of the Malagasy endemic *Euphorbia pervilleana* group. *Systematic Botany* 29:118--124.
- Hall, T.A.** 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95--98.
- Hassal, D.C.** 1977. The genus *Euphorbia* in Australia. *Australian Journal of Botany* 25:429--453.
- Horn, J.W., van Ee, B.W., Morawetz, J.J., Riina, R., Steinmann, V.W., Berry, P.E., & Wurdack, K.J.** 2012. Phylogenetics and the evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 63:305--326.
- Huelsenbeck, J.P., & Ronquist, F.** 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17:754--755.
- Lemmon, A.R.J.M.B., K. Stanger-Hall, and E. M. Lemmon.** 2009. The effect of missing data on phylogenetic estimates obtained by maximum-likelihood and Bayesian inference. *Systematic Biology* 58:130--145.
- Marshall, D.C.** 2010. Cryptic failure of partitioned Bayesian phylogenetic analyses: lost in the land of long trees. *Systematic Biology* 59:108--117.
- Marshall, D.C., Simon, C., & Buckley, T.R.** 2006. Accurate branch length estimation in partitioned Bayesian analyses requires accommodation of among-partition rate variation and attention to branch length priors. *Systematic Biology* 55:993--1003.
- Müller, K.** 2005. The efficiency of different search strategies in estimating parsimony jackknife, bootstrap, and Bremer support. *BMC Evolution* 5:10.
- Müller, K.** 2006. Incorporating information from length-mutational events into phylogenetic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38:667--676.
- Nobel, P.S.** 1988. *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Nylander, J.A.A., Wilgenbusch, J.C., Warren, D.L., & Swofford, D.L.** 2008. AWTY (are we there yet?): a system for graphical exploration of MCMC convergence in Bayesian phylogenetics. *Bioinformatics* 24:581--583.
- Olmstead, R.G., & Sweere, J.A.** 1994. Combining data in phylogenetic systematics: an empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae. *Systematic Biology* 43:467--481.
- Park, K.R., & Jansen, R.K.** 2007. A phylogeny of Euphorbiae subtribe Euphorbiinae (Euphorbiaceae) based on molecular data. *Journal of Plant Biology* 50:644--649.
- Posada, D., & Crandall, K.A.** 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14:817--818.

Table 1. Summary statistics of data sets used for phylogenetic inference. cpDNA set consisted of *matK* and *ndhF* sequence and indel data concatenated. 3-gene set consisted of cpDNA and ITS concatenated.

	<i>matK</i>	<i>ndhF</i>	ITS	cpDNA	3-gene Combined
Number of Accessions/Taxa	201/180	187/175	317/222	173/173	173/173
Aligned Sequence Length	2121	1428	689	3490	4171
Variable DNA sites (%)	848 (39.9)	558 (39.0)	470 (67.6)	1370	1829
Parsimony informative DNA sites (%)	543 (25.6)	391 (27.3)	423 (60.8)	790 (22.6)	1180 (28.3)
Alignment patterns DNA/Indel	957/90	620/31	513/-	1718	2208
Indels Coded	105	38	0	75	75
Parsimony informative indels (%)	43 (40.9)	13 (34.2)	-	32 (42.7)	32 (42.7)
Proportion missing data (%)	7.25	2.86	9.82	10.27	10.3
Nucleotide Substitution Model From Modeltest	TVM+I+ γ	GTR+I+ γ	GTR+I+ γ	GTR+I+ γ	GTR+I+ γ

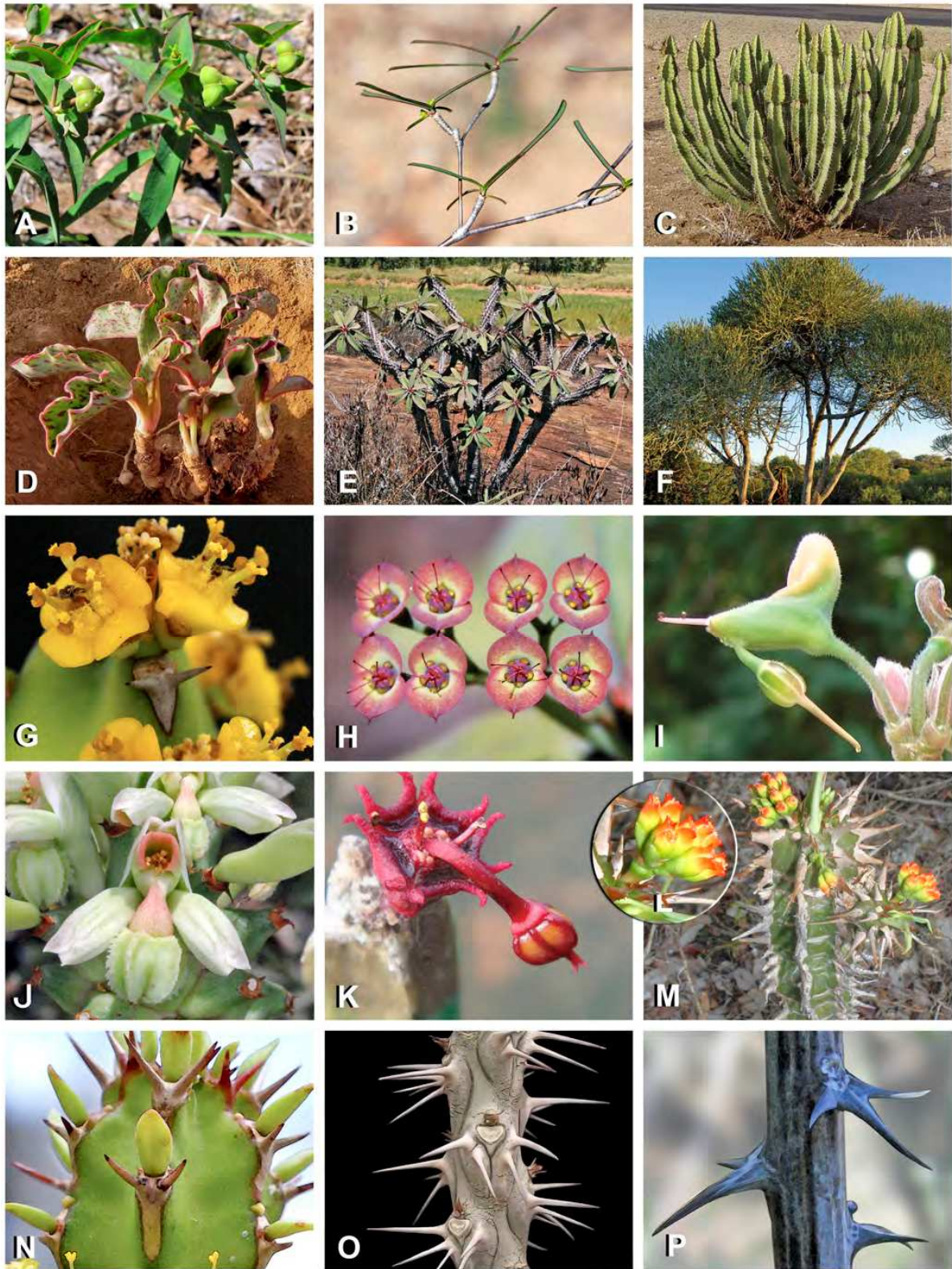


Figure 1. Examples of morphological diversity in subg. *Euphorbia*. (A-H) Growth forms: A. herb, *E. floridana*, B. Leafy shrub with short/long shoots, *E. hedyotoides* C. cactiform succulent, *E. sp.*, D. Geophyte, *E. nana*, E. Spiny, xerophytic shrub, *E. horombensis*, F. Pencil-stem tree, *E. decorsei*, (G-L) Cyathia forms: G. Simple form of sect. *Euphorbia*, H. Spreading cyathophylls common in sect. *Goniostema*, I. Zygomorphic cyathia with nectar spur typical of sect. *Crepidaria*, J. Fused glands of sect. *Monadenium*, K. Horned glands of sect. *Brasiliensis*, L. Cyathophylls forming a pseudo-floral tube typical of several members of sect. *Goniostema*, (M-P) Spine structures: M. Spine shields of sect. *Euphorbia*, N. stipular spines of sect. *Goniostema*, P. *E. neospinescens* of sect. *Monadenium*. (Photo credits - A: Kimberley Gullede, Atlas of Florida Vascular Plants; B, E-H, J, N, P Brian Dorsey, I: Victor Steinmann, M: Ben Van Ee, O: Frank Vincentz)

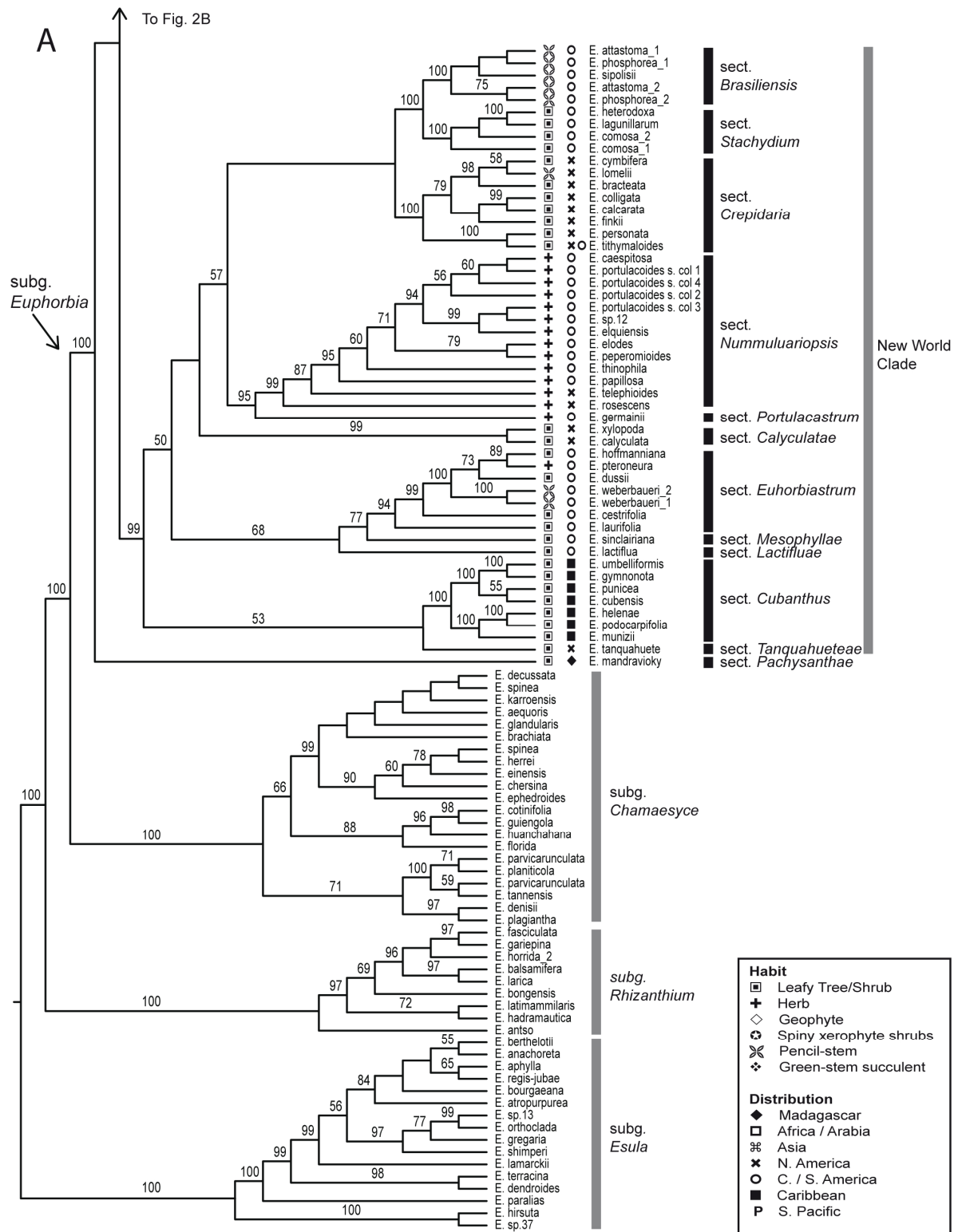
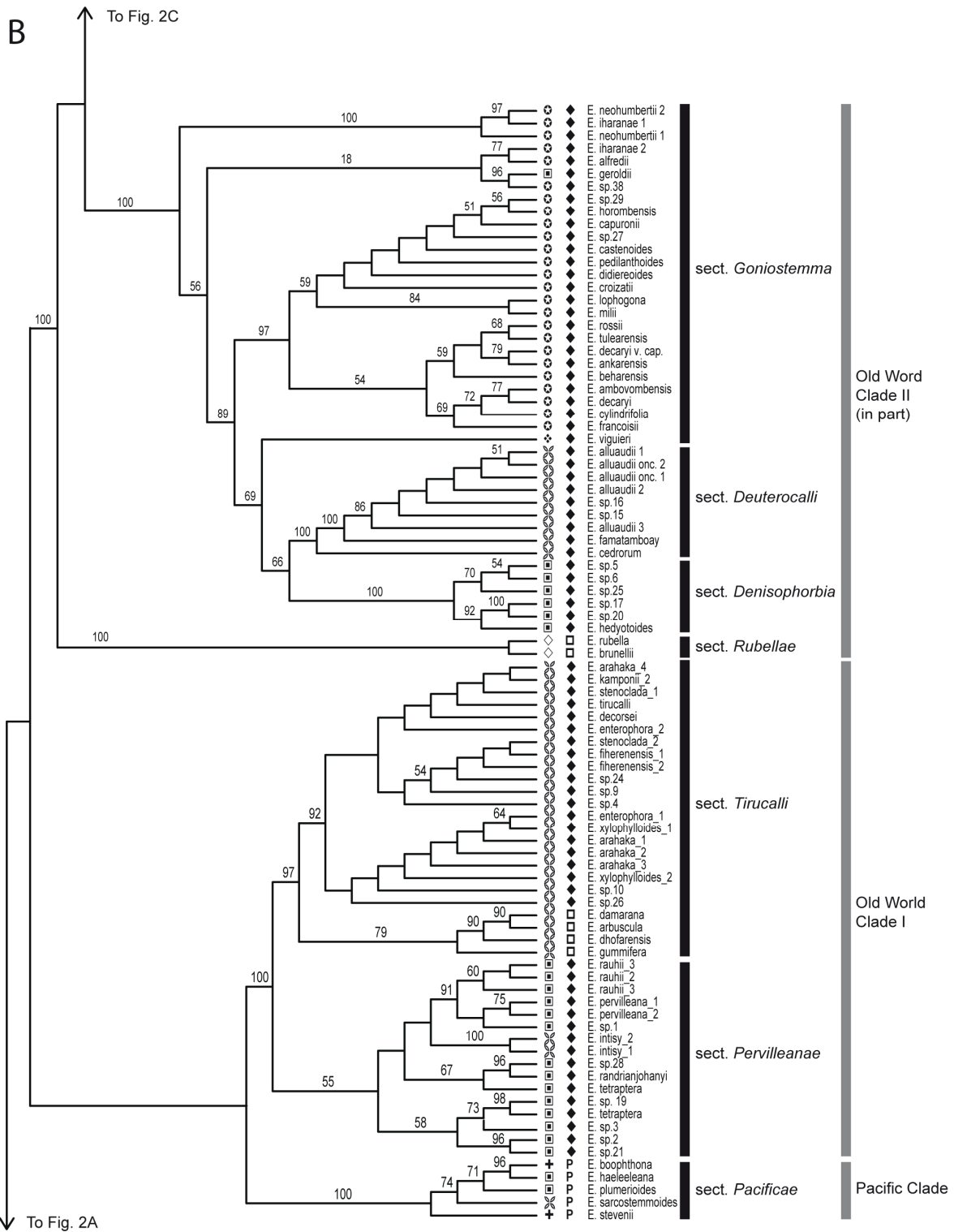
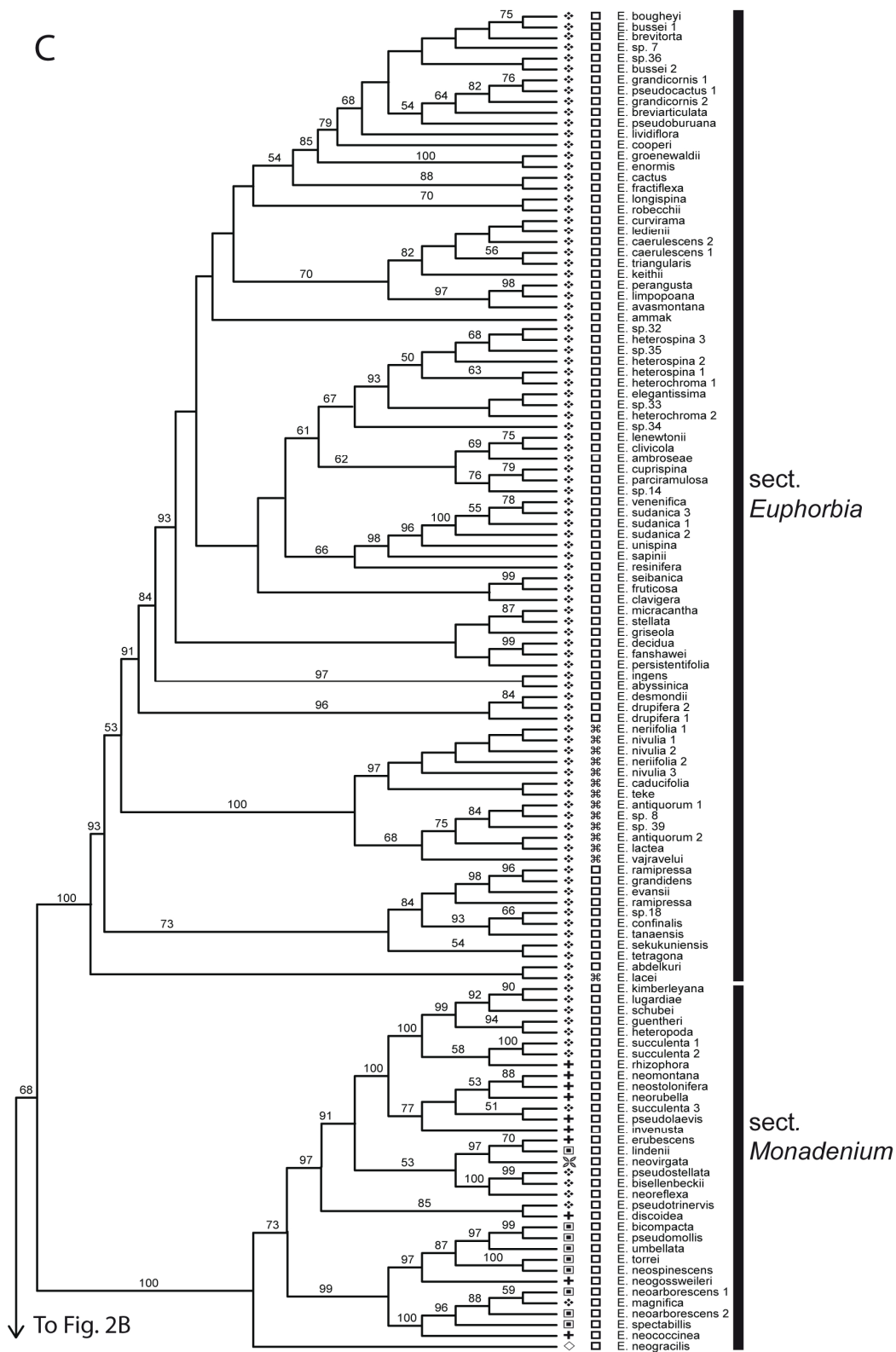


Figure 2. Maximum likelihood estimate of the phylogenetic relationships of subg. *Euphorbia* based on the 3-gene data set. Bootstrap support for clades > 50% is given above branches. Habit (left column) and distribution (right column) are indicated to the left of the taxa names – see legend for symbol definitions. Sections circumscribed in this study are indicated to the right of the taxa and the four major lineages within subg. *Euphorbia* to the right of these. A) Outgroups and New World Clade, B) Pacific Clade, Old World Clade I and Old World Clade II (in part), C) Old World Clade II (in part).



C



sect.
Euphorbia

Old World
Clade II
(cont.)

sect.
Monadenium

↓ To Fig. 2B

Annexe I.2.

**Molecular phylogenetics and classification of *Euphorbia* subgenus
Chamaesyce (Euphorbiaceae)**

Ya Yang, Ricarda Riina, Jeffery J. Morawetz,
Thomas Haevermans, Xavier Aubriot, Paul E. Berry

Taxon **61** (2012)

Molecular phylogenetics and classification of *Euphorbia* subgenus *Chamaesyce* (Euphorbiaceae)

Ya Yang,¹ Ricarda Riina,² Jeffery J. Morawetz,³ Thomas Haevermans,⁴ Xavier Aubriot⁴ & Paul E. Berry^{1,5}

1 Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Michigan, Ann Arbor, 830 North University Avenue, Ann Arbor, Michigan 48109-1048, U.S.A.

2 Real Jardín Botánico, CSIC, Plaza de Murillo 2, Madrid 28014, Spain

3 Rancho Santa Ana Botanic Garden, Claremont, California 91711, U.S.A.

4 Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Systématique et Evolution, UMR 7205 CNRS/MNH Origine, Structure et Evolution de la Biodiversité, CP 39, 57 rue Cuvier, 75231 Paris cedex 05, France

5 University of Michigan Herbarium, Department of Ecology and Evolutionary Biology, 3600 Varsity Drive, Ann Arbor, Michigan 48108, U.S.A.

Author for correspondence: Paul E. Berry, peberry@umich.edu

Abstract *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* contains around 600 species and includes the largest New World radiation within the Old World-centered genus *Euphorbia*. It is one of the few plant lineages to include members with C₃, C₄ and CAM photosynthesis, showing multiple adaptations to warm and dry habitats. The subgenus includes North American-centered groups that were previously treated at various taxonomic ranks under the names of “*Agaloma*”, “*Poinsettia*”, and “*Chamaesyce*”. Here we provide a well-resolved phylogeny of *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* using nuclear ribosomal ITS and chloroplast *ndhF* sequences, with substantially increased taxon sampling compared to previous studies. Based on the phylogeny, we discuss the Old World origin of the subgenus, the evolution of cyathial morphology and growth forms, and then provide a formal sectional classification, with descriptions and species lists for each section or subsection we recognize.

Key Words C₄; CAM; *Euphorbia* subgenus *Chamaesyce*; Euphorbiaceae; ITS; *ndhF*

Supplementary Material The alignment files are available in the Supplementary Data section of the online version of this article (<http://www.ingentaconnect.com/content/iapt/tax>).

■ INTRODUCTION

Euphorbia L. (Euphorbiaceae) has about 2000 species worldwide and is well known for the remarkable diversity of succulent and non-succulent plants that are avidly grown by horticultural enthusiasts. The entire genus is characterized by the presence of a cyathium, a unique inflorescence type (Prenner & Rudall, 2007; Prenner & al., 2011). The genus appears to have originated in the Old World (Steinmann & Porter, 2002), with multiple New World groups embedded in it. The largest New World lineage consists of more than 500 species that are characterized by the presence of petaloid appendages subtending the cyathial glands, although this feature has been subsequently lost a number of times. This petaloid appendage-bearing, New World group is deeply nested within Old World groups, and together they constitute *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* Raf. (Steinmann & Porter, 2002; Bruyns & al., 2006; Horn & al., 2012a). Subgenus *Chamaesyce* is best known for its leafy, non-succulent, ornamental species, such as the Christmas Poinsettia (*E. pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), one of the most profitable potted plants in the world. Other widely cultivated members are “Snow-on-the-Mountain” (*E. marginata* Pursh.) and “Diamond Frost” (a cultivar of *E. graminea* Jacq.). It also includes a large number of cosmopolitan weedy species such as the spotted spurge (*E. maculata* L., Fig. 1E).

Among the four subgenera of *Euphorbia*, *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* is the second-most species-rich, encompassing around 600 species worldwide. It is highly diverse in growth forms, including annual and perennial herbs, shrubs, trees, and pencil-stem succulents (Fig. 1A–E). Notably, it is the only plant lineage at or below the level of genus that has all known photosynthetic types: C₃, C₄ and CAM (Webster & al., 1975), plus a C₂ system that represents an early stage of C₃ to C₄ transition (Sage & al., 2011). C₄ photosynthesis evolved once within *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* sect. *Anisophyllum*, and this C₄ group subsequently diversified into approximately 350 species worldwide (Yang & Berry, 2011); C₂ photosynthesis also evolved once, again in sect. *Anisophyllum*, and is present in two species restricted to southwestern United States and northern Mexico (Sage & al., 2011). CAM photosynthesis, in contrast, evolved multiple times in subg. *Chamaesyce* in both the Old World and the New World (Horn & al., 2012b).

Due to widespread convergence in growth forms and cyathial characters, subgeneric classification within *Euphorbia* has been notoriously contentious. The current scheme of four subgenera is based on molecular evidence. All molecular phylogenetic studies to date support all cyathium-bearing species as forming a monophyletic *Euphorbia* s.l. (Steinmann & Porter, 2002; Bruyns & al., 2006, 2011; Park & Jansen, 2007; Zimmermann & al., 2010; Horn & al., 2012a). These studies

also support the monophyly of four major clades within *Euphorbia*, which were informally named by Steinmann & Porter (2002) as clades A, B, C and D. Among them, clade D was later recognized by Bruyns & al. (2006) as subg. *Chamaesyce* Raf. These studies either have limited taxon sampling within subg. *Chamaesyce*, or else they have low statistical support within subg. *Chamaesyce*. Steinmann & Porter (2002) sampled 82 of the 600 species in subg. *Chamaesyce* for nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS), among which 40 also had *ndhF* sequences. Using maximum parsimony, they found that the majority of deep nodes within the genus received low statistical support. Four subsequent genus-wide molecular phylogenetic studies each added only a small number of species within subg. *Chamaesyce*, and relationships among major groups of the subgenus remained poorly supported (Bruyns & al., 2006, 2011; Park & Jansen, 2007; Zimmermann & al., 2010). This problem was partly addressed by the “backbone” phylogeny of Horn & al. (2012a), which sampled 176 species across *Euphorbia* using ten loci, including nuclear, mitochondrial and chloroplast regions, with 31 representative species within subg. *Chamaesyce*. This study had much improved support values within subg. *Chamaesyce*, and it highly supported the monophyly of subg. *Chamaesyce*, as well as its sister relationship to *Euphorbia* subg. *Euphorbia*. Of all six previous genus-wide molecular studies, three of them support a monophyletic, primarily New World clade nested in a basal Old World grade (Steinmann & Porter, 2002; Zimmermann & al., 2010; Horn & al., 2012a). The other three studies lack statistical support for deep nodes within subg. *Chamaesyce* (Bruyns & al., 2006, 2011; Park & Jansen, 2007). In addition to these studies, Yang & Berry (2011) constructed a robust phylogeny of *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* sect. *Anisophyllum*, which corresponds to the former segregate genus *Chamaesyce* S.F. Gray. In their analysis, 138 ingroup species were sequenced with two nuclear loci and three chloroplast loci, and the monophyly of sect. *Anisophyllum* was well supported. Taking all seven previous molecular studies into account, about a third of the species in subg. *Chamaesyce* were sampled, and most species outside of sect. *Anisophyllum* only have ITS sequences available.

With the international collaborative network established by the *Euphorbia* Planetary Biodiversity Inventory (*Euphorbia* PBI) project (www.euphorbiaceae.org), we have been able to greatly expand our worldwide taxon sampling to reconstruct a well-sampled, and well-supported molecular phylogeny. The main purpose of this paper is to propose a revised sectional and subsectional classification of *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* in light of the updated phylogeny we have produced. This will provide a stable nomenclatural base for subsequent research.

■ MATERIALS AND METHODS

Taxon sampling. — Silica-preserved leaf samples were collected in all major areas where *Euphorbia* occurs during 2006–2009. Sampling was supplemented by leaf materials taken from herbarium sheets. To include as many taxa as possible belonging to subg. *Chamaesyce*, we conducted a

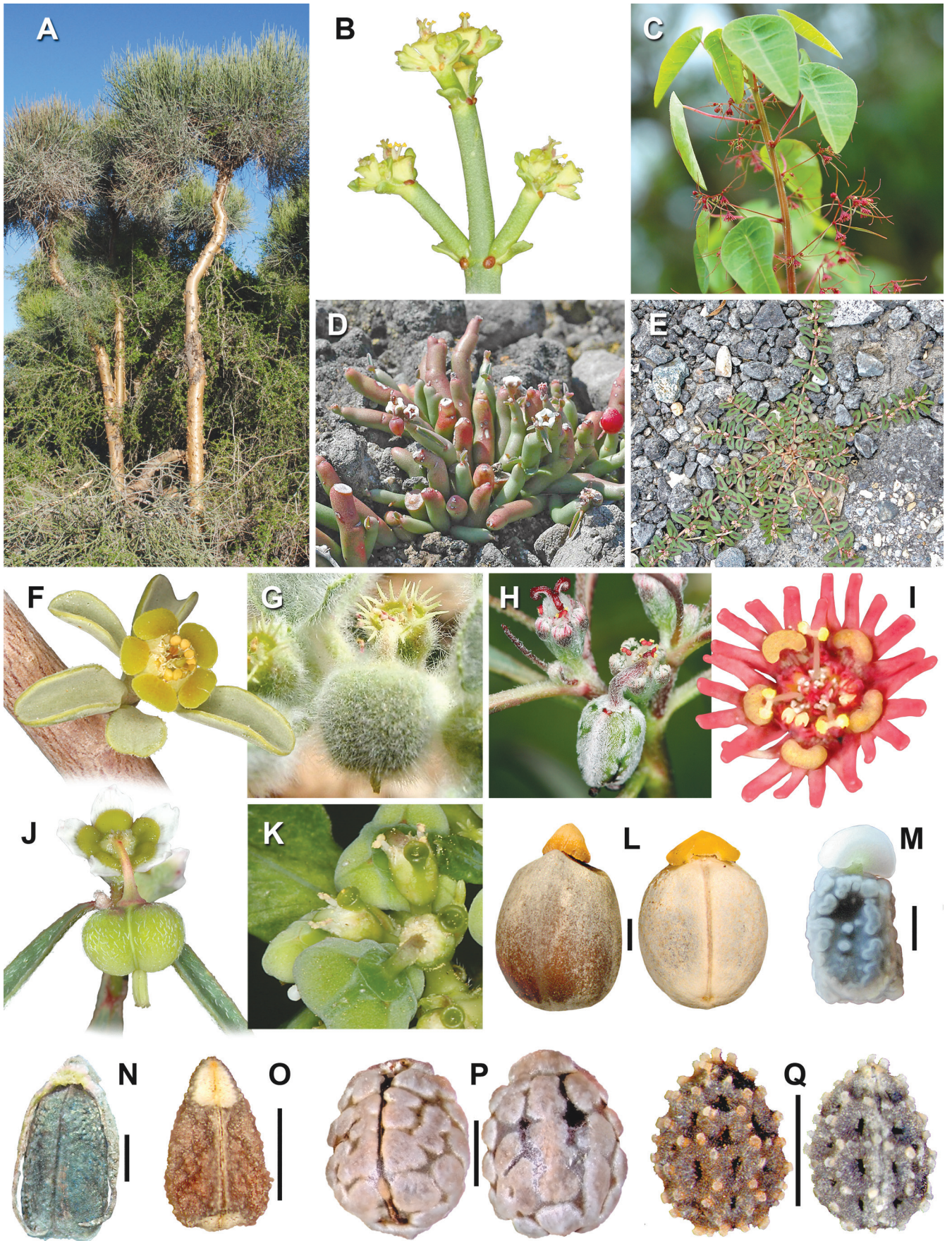
preliminary maximum parsimony analysis in PAUP* (Swofford, 2003), using *ndhF* sequences to assign each taxon to one of the four subgenera in *Euphorbia*. In addition, all sequences in GenBank that belong to subg. *Chamaesyce* were included. In total, our taxon sampling covered 291 out of the total of 600 species in the subgenus, with all previously recognized sections and most subsections represented. Since the monophyly and subclade structure within sect. *Anisophyllum* was well established in an earlier study (Yang & Berry, 2011), we reduced taxon sampling within sect. *Anisophyllum* to 15 species representing all major subclades. About 80 DNA accessions that grouped together with conspecific sequences during our preliminary analysis were excluded. In total, our final matrices include 174 taxa (163 ingroup taxa and 11 species representing the other three subgenera of *Euphorbia* as outgroups). All taxa sampled for the molecular phylogeny are associated with herbarium voucher specimens and are listed in the Appendix.

DNA extraction, amplification, and sequencing. — DNA extraction and PCR amplification of the ITS region were carried out following Yang & Berry (2011). The chloroplast *NADH dehydrogenase F (ndhF)* coding region was PCR-amplified in two pieces: the 5' half was amplified using primers 536 and 1318R (Olmstead & Sweere, 1994), and the 3' half using primers 972 (Olmstead & Sweere, 1994) and 2110Ri (Steinmann & Porter, 2002). The PCR mixture contained 0.15 μ L of 5 units/ μ L *Ex Taq* (Takara Bio Inc., Otsu, Shiga, Japan), 2.5 μ L 10 \times *Ex Taq* Buffer, 2.0 μ L dNTP (2.5 mM), 1.0 μ L of each primer (10 μ M), 2 μ L of diluted template DNA (dilution varies from 1/20 to 1/80), and ddH₂O to bring the final volume to 25 μ L. The PCR profile consisted of an initial 4 min denaturing step at 95°C followed by 40 cycles of 45 s denaturing at 95°C, 45 s annealing at 53.6°C, and 2 min “slow and cold” extension at 65°C (Shaw & al., 2007). PCR products were purified with ExoSap-IT (USB Corporation, Cleveland, Ohio, U.S.A.), or QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Valencia, California, U.S.A.). Cleaned PCR products were sequenced at the University of Michigan DNA Sequencing Core using the respective PCR primers.

Phylogenetic analyses. — Chromatograms were assembled and edited in the program Sequencher v.4.10.1 (Gene Codes, Ann Arbor, Michigan, U.S.A.). Sequence alignments were performed in the program MUSCLE v.3.8 (Edgar, 2004) using the default parameters, and manually adjusted in the program MacClade v.4.08 (Simmons, 2004; Maddison & Maddison, 2005). The full-length data matrices are in the online supplementary data, and sequences are deposited in GenBank (Appendix).

Phylogenetic analyses using maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) were conducted on the ITS and *ndhF* matrices separately, with gaps treated as missing data. Congruence between the resulting ITS and *ndhF* trees was visually inspected before concatenating them into a combined matrix. ITS, *ndhF* and the combined matrices were each subjected to the analyses described below.

Maximum likelihood analyses were carried out in the program RAxML v.7.0.3 (Stamatakis, 2006), partitioning ITS vs. *ndhF* regions. The nucleotide substitution model was set to



GTR+G as recommended by the RAxML manual; 500 ML bootstrap replicates were performed, followed by a thorough search for the best tree. Bayesian inference was conducted in the program MrBayes v.3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001; Ronquist & Huelsenbeck, 2003). Two independent runs (four for the combined dataset) of four chains each (three heated, one cold), starting from random trees, using the default temperature of 0.2, were run for 15 million generations. Trees were sampled every 1000 generations. Each analysis was conducted using the nucleotide substitution model GTR+I+G as selected by Akaike information criterion (AIC) in the program MrModeltest v.2.3 (Nylander, 2004). To prevent unrealistically long branches, “br lenspr=unconstrained:exponential(100.0)” was applied (Brown & al., 2010; Marshall, 2010). The relevant parameters for convergence were visually examined in the program Tracer v.1.5 (Rambaut & Drummond, 2007) to verify stationary status. Trees from the first 2.5 million generations were discarded as burn-in; the remaining trees were used to compute the majority-rule consensus tree and support statistics.

RESULTS

Overall statistics of the gene regions sequenced for this study are summarized in Table 1. Results of phylogenetic analyses are shown in Figs. 2 and 3 and are summarized in Fig. 4. For each of the three analyses (ITS, *ndhF*, combined ITS+*ndhF*), BI and ML results are congruent for nodes with ML bootstrap support (MLB) ≥ 50 and Bayesian posterior probability (PP) ≥ 0.80 ; monophyly of subg. *Chamaesyce* and its sister relationship to *Euphorbia* subg. *Euphorbia* are both highly supported (MLB ≥ 80 ; PP = 1). Groups are numbered consistently across

Figs. 2–4, and labels for sections, subsections, and subclades are shown on the combined tree only in Fig. 3.

ITS dataset. — The ITS dataset has a relatively high proportion of variable sites compared to *ndhF* (71.1% vs. 45.1%, Table 1). The alignment required some manual adjustment in parts, and all characters were included in the subsequent phylogenetic analysis. Monophyly of each section is strongly supported by MLB ≥ 70 (not shown) and PP = 1 (Fig. 2), except that sect. *Gueinzia* (11) is nested in sect. *Crossadenia* (12) with MLB = 72 (not shown) and PP = 0.81.

***ndhF* dataset.** — The *ndhF* coding region could be unambiguously aligned, with relatively fewer variable sites compared to ITS (Table 1). Monophyly of each section is supported by MLB ≥ 81 (not shown) and PP ≥ 0.88 (Fig. 2), except for sect. *Poinsettia*, where *E. jaliscensis* is sister to sect. *Poinsettia* (14) + sect. *Alectorroctonum* (15) with MLB = 62 (not shown) and PP = 0.75 (Fig. 2).

Combined ITS+*ndhF* dataset. — Analysis of the combined dataset produced a well-resolved phylogeny (Fig. 3). Monophyly of each section is supported by MLB ≥ 92 and PP ≥ 0.92 , except for sect. *Crossadenia*, which has sect. *Gueinzia* nested within it. Relationships within each clade are well resolved in general, except for certain nodes in sect. *Alectorroctonum* and sect. *Articulofruticosae*. There are five instances of moderately (thin continuous lines) to strongly supported (thick lines) incongruence between the ITS and *ndhF* datasets, and such incongruences affect the combined analysis in different ways (Figs. 2, 3). (1) In sect. *Alectorroctonum*, the two clades marked with an asterisk (*) are strongly supported as sister to each other in the combined analysis and in the *ndhF* phylogeny, while ITS strongly supports them forming a paraphyletic grade. (2) *Euphorbia jaliscensis* is strongly supported as nested

Table 1. Summary statistics for the aligned molecular data matrices.

	<i>ndhF</i>	ITS	combined <i>ndhF</i> + ITS
No. of accessions	147	172	182
Range of raw length ^a [bp]	762–1480	336–651	584–2123
Aligned length	1547	714	2261
Variable characters (proportion)	697 (45.1%)	508 (71.1%)	1205 (53.3%)

^a Lower ends of raw lengths are from partial sequences that the full-length sequences failed to amplify or sequence.

Fig. 1. *Euphorbia* subg. *Chamaesyce*: **A–E**, representative growth forms; **F–K**, cyathial morphologies; **L–Q**, seed morphologies. **A**, *Euphorbia plagiantha*, a broom-like tree (sect. *Plagianthae*; Dorsey 164, MICH); **B**, *E. burmannii*, a stem-succulent shrub with opposite or dichotomous branching and terminal cymes (sect. *Articulofruticosae*; Becker & Moller 1141, UNIN); **C**, *E. subpeltata*, a herb with indeterminate main shoots and axillary cymes (sect. *Alectorroctonum*; Steinmann 5585, IEB); **D**, *E. gumaroi*, a stem-succulent herb with alternate branching and single, terminal cyathia (sect. *Alectorroctonum*; Steinmann 5813, MICH); **E**, *E. maculata*, a prostrate herb with early termination of main shoots typical of sect. *Anisophyllum*; **F**, *E. guerichiana*, showing exappendiculate glands (sect. *Espinosa*; Becker & Moller 929, UNIN); **G**, *E. petiolata*, showing pectinate cyathial glands (sect. *Cheirolepidium*; Zarre & Salmaki 39514, TUH); **H**, *E. eriantha*, showing gland appendages arching over and concealing the glands (sect. *Erianthae*; field photo, California); **I**, *E. subpeltata*, showing cyathial appendages with finger-like lobes (sect. *Alectorroctonum*; Steinmann 5585, IEB); **J**, *E. sphaerorhiza*, showing cyathial morphology typical in sect. *Alectorroctonum* (Yang 110, MICH); **K**, *E. heterophylla*, showing single, stalked and cupped glands typical of sect. *Poinsettia* subsect. *Stormieae* (Riina 1825, VEN); **L**, *E. espinosa* (sect. *Espinosa*; Leach 15938, UNIN); **M**, *E. petiolata* (sect. *Cheirolepidium*; Zarre & Salmaki 39514, TUH); **N**, *E. cheirolepis* (sect. *Cheirolepidium*); **O**, *E. mundii* (sect. *Articulofruticosae*; Leach 17110, UNIN); **P**, *E. goyazensis* (sect. *Crossadenia*; Caruzo 139, HUEFS); **Q**, *E. sonorae* (sect. *Alectorroctonum*; Fishbein 2455, RSA). — Photo credits: A, B.L. Dorsey; B & F, A. Moller; C, D, I & J, V.W. Steinmann; E, P.E. Berry; G & M, Y. Salmaki and S. Zarre; H, S. Matson; K, R. Riina; L, O & Q, B. Wagner; N, A.H. Pahlevani; P, J.J. Morawetz.

within sect. *Poinsettia* in the combined analysis and with ITS, but not with the *ndhF* data alone. (3) *Euphorbia gueinzii* is nested within sect. *Crossadenia* in the ITS analysis with strong support, while *ndhF* provides low support (dashed line) for *E. gueinzii* being sister to sect. *Crossadenia*; the combined analysis is congruent with the ITS topology in this case but with weaker support values. (4) *Euphorbia salota* is strongly supported by the combined and *ndhF* analyses to be nested within the Madagascar clade, while ITS places it sister to sect. *Cheirolepidium*+sect. *Eremophyton* with moderate support, separated from the rest of the Madagascan species. (5) Within sect. *Articulofruticosae*, results from ITS either conflict with *ndhF* or are poorly resolved, and the combined tree is also poorly resolved.

■ DISCUSSION

Our results are consistent with all six previous genus-wide molecular phylogenetic studies and support subg. *Chamaesyce* being monophyletic and sister to subg. *Euphorbia* (Steinmann & Porter, 2002; Bruyns & al., 2006, 2011; Park & Jansen, 2007;

Zimmermann & al., 2010; Horn & al., 2012a). Three of these six previous studies supported a single origin of New World taxa from an Old World grade within subg. *Chamaesyce*, with the eastern Brazilian clade sect. *Crossadenia* being sister to the rest of the New World group (Steinmann & Porter, 2002; Zimmermann & al., 2010; Horn & al., 2012a). Our results differ somewhat in that they support an Old World–eastern Brazilian clade sister to a New World clade, and together these are nested in a paraphyletic Old World grade (Fig. 4).

Bruyns & al. (2006) made an attempt to provide a sectional classification of subg. *Chamaesyce* based on molecular data. They recognized four sections within the subgenus: (1) “sect. *Chamaesyce*”, which included the New World clade+Old World–eastern Brazilian clade+sect. *Tenellae*, sharing petaloid cyathial appendages (the “petaloid appendage clade”, Fig. 4; Horn & al., 2012a); (2) sect. *Frondosae*, a diverse Old World group; (3) sect. *Articulofruticosae*, a group of pencil-stem succulents from southern Africa that is both molecularly and morphologically distinct; and (4) sect. *Espinosae*, a clade of two shrubby or tree-forming species from Africa; they left *E. tannensis* unplaced. Among the four sections that they recognized, we agree with their naming and circumscription for all but the

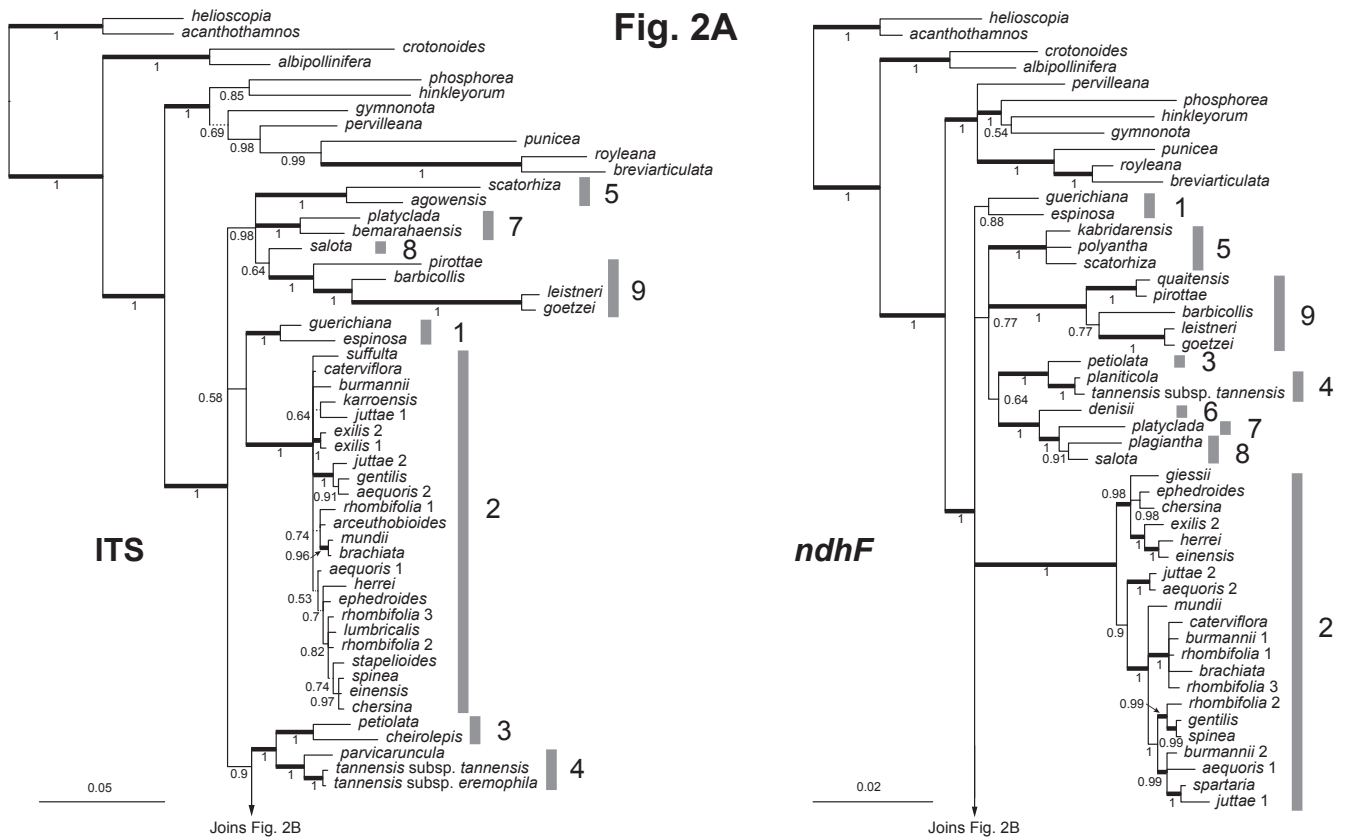


Fig. 2. Majority-rule consensus trees recovered from Bayesian analyses of the nuclear ITS and the chloroplast *ndhF* coding regions. Numbers below the branches indicate Bayesian posterior probabilities (PP). Thick branches indicate maximum likelihood bootstrap percentages (MLB) ≥ 70 and PP ≥ 0.95 , and branches in dashed lines have MLB < 50 and PP < 0.80 . Branch length scale on lower left of each tree. Numbers correspond to numbered sections in Fig. 3 and in the taxonomic treatment. 1 = sect. *Espinosae*; 2 = sect. *Articulofruticosae*; 3 = sect. *Cheirolepidium*; 4 = sect. *Eremophyton*; 5 = sect. *Scatorhizae*; 6 = sect. *Denisiae*; 7 = sect. *Bossieriae*; 8 = sect. *Plagianthae*; 9 = sect. *Frondosae*; 10 = sect. *Tenellae*; 11 = sect. *Gueinziae*; 12 = sect. *Crossadenia*; 13 = sect. *Anisophyllum*; 14 = sect. *Poinsettia*; 15 = sect. *Alectoroctonum*.

Joins Fig. 2A

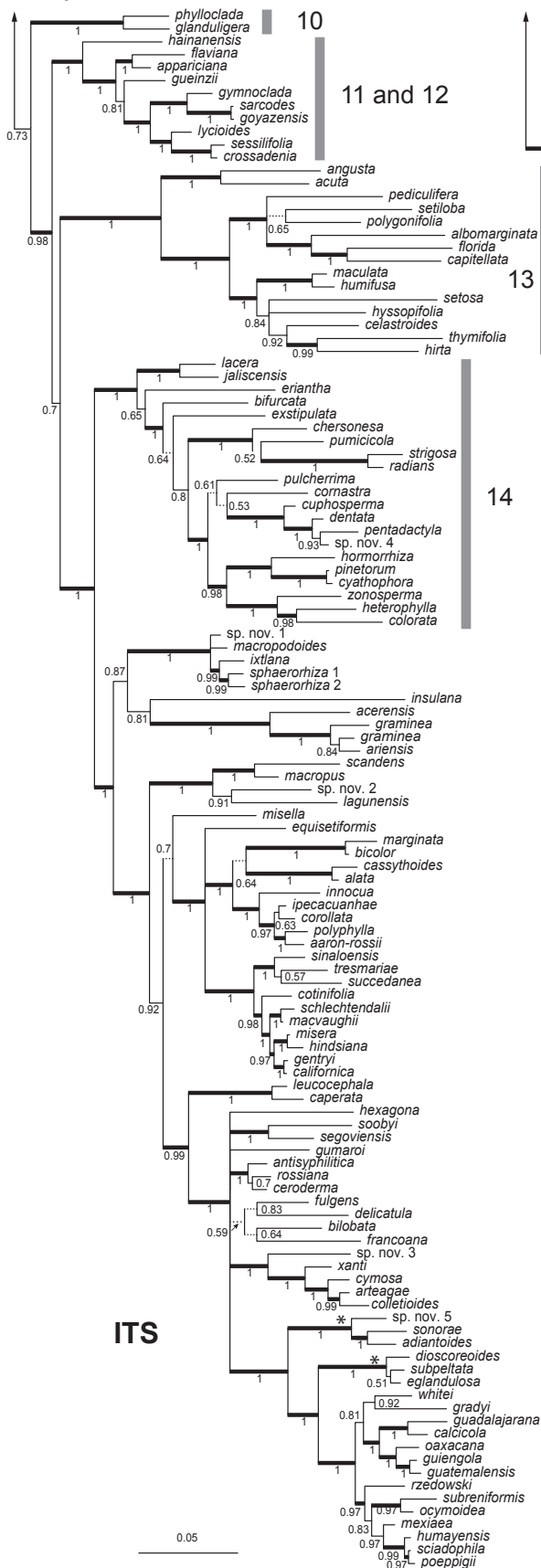
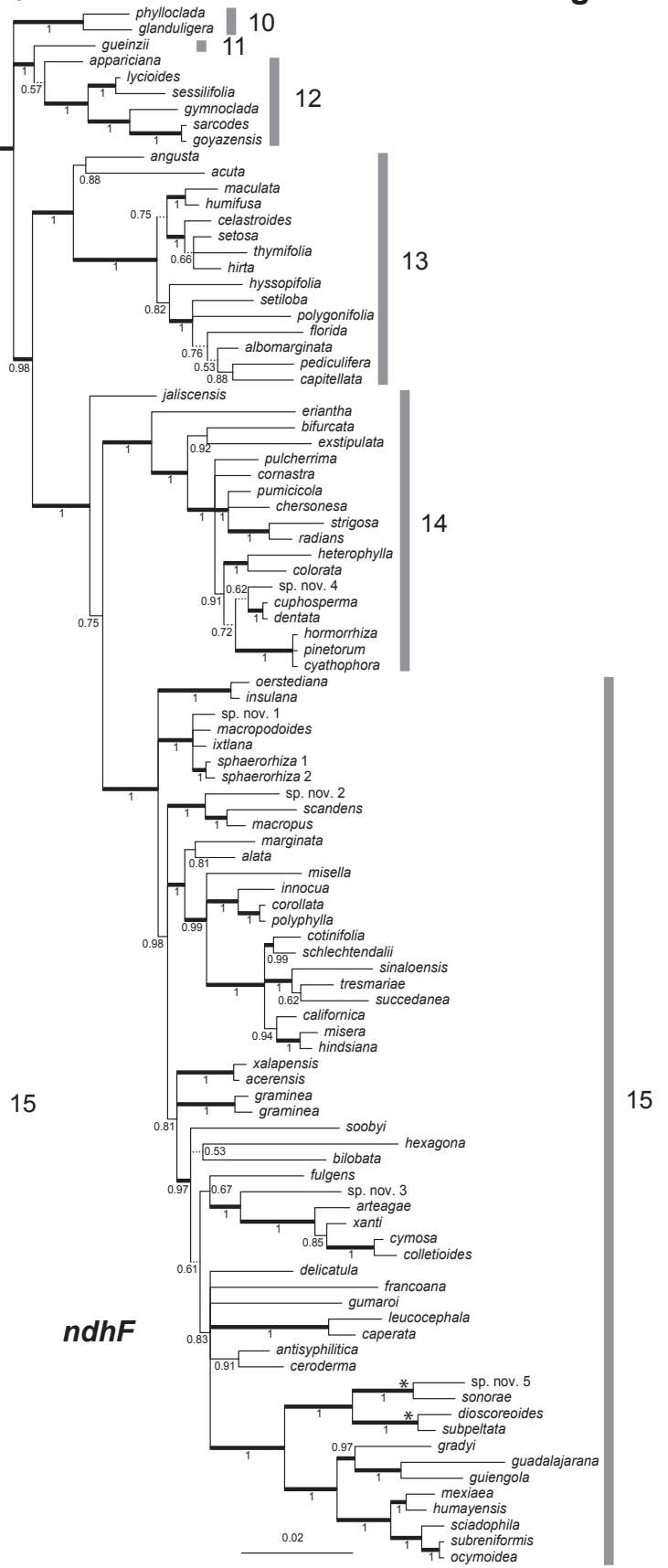


Fig. 2B

Joins Fig. 2A



first one. In that case, we propose that their “sect. *Chamaesyce*” needs to be divided into six sections: sect. *Tenellae*, sect. *Gueinziae*, sect. *Crossadenia*, sect. *Anisophyllum*, sect. *Poinsettia*, and sect. *Alectoroctonum*. In addition, we designate six additional Old World sections to accommodate species that were either unsampled or unplaced by Bruyns & al. (2006), namely, sect. *Cheirolepidium*, sect. *Eremophyton*, sect. *Scatorhizae*, sect. *Denisiae*, sect. *Bosseriae*, and sect. *Plagianthae*. In the following discussion, we focus on comparing our results to the marker-rich but relatively taxon-poor “backbone” analysis of Horn & al. (2012a).

The Old World grade. — In Fig. 4, clades from sect. *Espinosae* up to sect. *Tenellae* are entirely Old World, forming

the early diverging Old World grade in subg. *Chamaesyce*. Within this group, BI analysis of ITS places sect. *Eremophyton* + sect. *Cheirolepidium* as sister to the petaloid appendage clade, similar to the placement in Bruyns & al. (2006), which was also based on BI of ITS alone (Fig. 2A). However, ML analysis of ITS, and both BI and ML analyses of *ndhF*, all support this clade as sister to the Madagascar clade. The cause of this incongruence between BI and ML is unknown, but it could be because BI is more prone to long-branch attraction (Kolaczowski & Thornton, 2009).

Our results conflict with those of Horn & al. (2012a) as to the earliest branching event within the clade of subg. *Chamaesyce* (Fig. 4). Our combined analysis recovered sect.

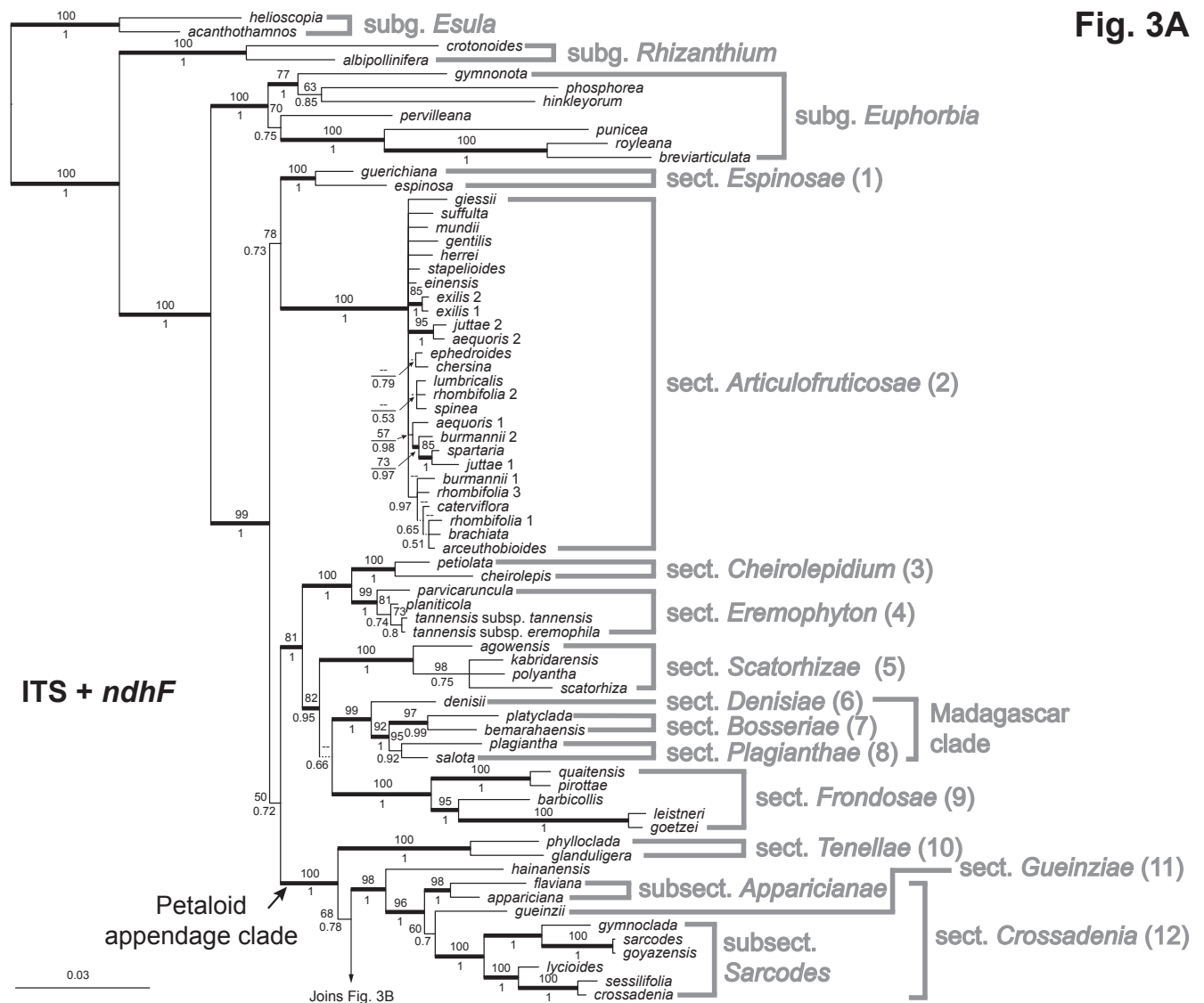
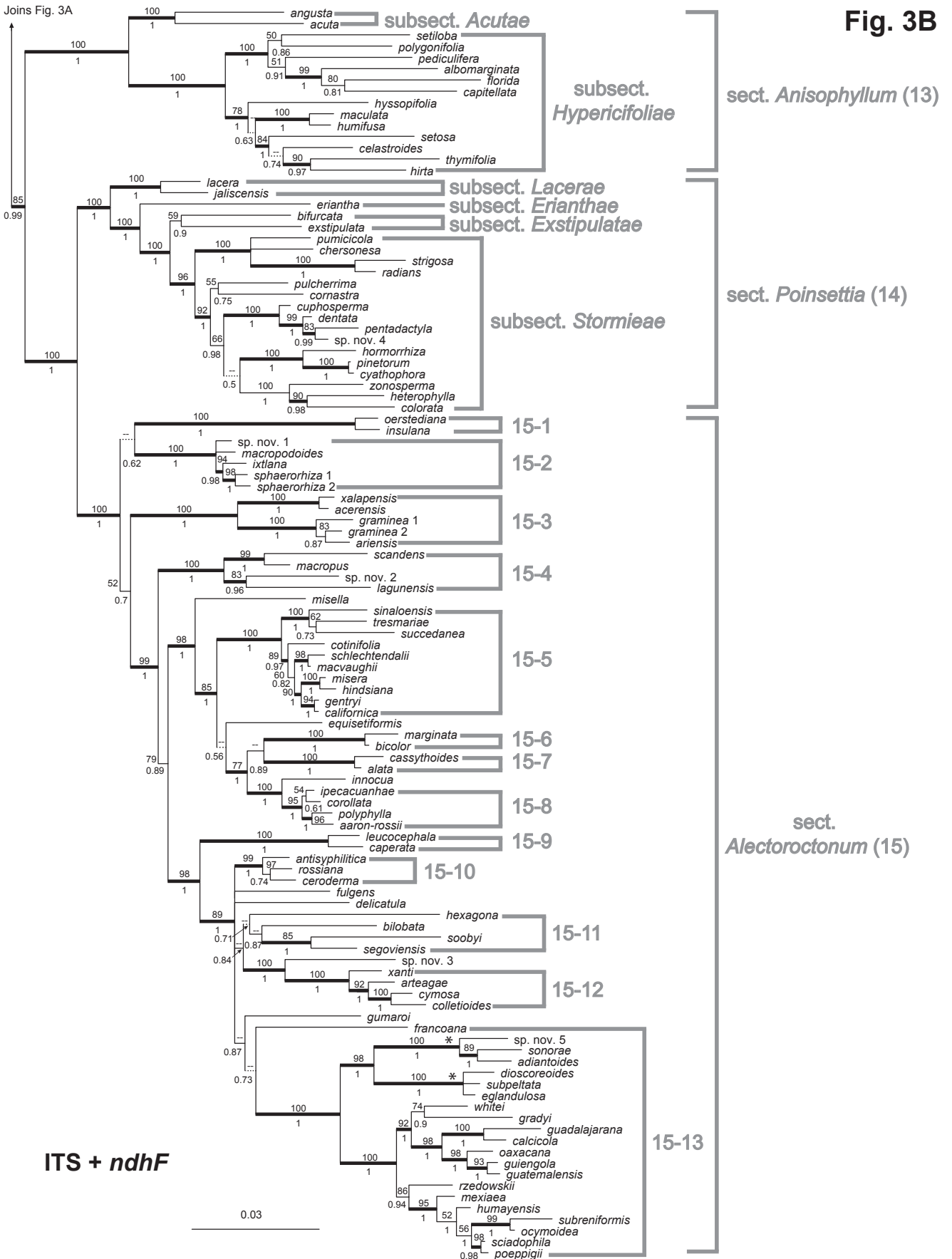


Fig. 3. Majority-rule consensus tree recovered from Bayesian analyses of the combined dataset (ITS + *ndhF*) with designated names of taxonomic units. Numbers above the branches indicate maximum likelihood bootstrap percentages (MLB), and numbers below the branches are Bayesian posterior probabilities (PP). Thick branches indicate MLB ≥ 70 and PP ≥ 0.95, and branches in dashed lines have MLB < 50 and PP < 0.80. Branch length scale on lower left. Numbers next to each section correspond to numbers in Fig. 2 and in the taxonomic treatment. Subgroups within sect. *Alectoroctonum* are indicated with hyphenated numbers.



Articulofruticosae + sect. *Espinosa* as sister to the rest of the subgenus with moderate support. However, Horn & al. (2012a) recovered sect. *Cheirolepidium* + sect. *Eremophyton* + sect. *Scatorhizae* + the Madagascar clade + sect. *Frondosae* as sister to the rest of subg. *Chamaesyce*. The latter received much stronger statistical support and may be more accurate because of their deeper molecular sampling.

Our results also disagree with Park & Jansen’s (2007) placement of *E. cuneata*. The *E. cuneata* sequence retrieved from GenBank (specimen/voucher *Park 24023*) was nested in our sect. *Scatorhizae* (not shown). However, our own field-collected sample of *E. cuneata* is placed within *Euphorbia* subg. *Rhizanthium* (Riina & al., in prep.), as was another collection sequenced by Bruyns & al. (2011). Park & Jansen’s (2007) *E. cuneata* has the same sequence as the *E. polyantha ndhF* sequence by Steinmann & Porter (2002), except that Park’s *ndhF* sequence has a 9-bp deletion in the middle. Because of this, we believe that Park & Jansen (2007) misidentified *E. polyantha* as *E. cuneata* in their paper.

Among the ten sections we recognize in the Old World grade, sect. *Tenellae* is of particular interest because some of its members share petaloid gland appendages (though they are vestigial or absent in some species—see later descriptions) with the Old World–eastern Brazilian clade+the New World clade. Petaloid appendages (Fig. 1I–J) likely evolved in the common ancestor of sect. *Tenellae*+Old World–eastern Brazilian clade+the New World clade, and together they form the “petaloid appendage clade” (Fig. 4; Horn & al., 2012a), which also corresponds to the “*Agaloma* alliance” of Steinmann & Porter (2002).

The Old World–eastern Brazilian clade. — With substantially increased taxon sampling compared to all previous studies, our analyses recovered two Old World species, *E. hainanensis* Croizat and *E. gueinzii* Boiss., that group together with the Brazilian sect. *Crossadenia* rather than with any other Old World group (Figs. 2, 3). However, we still consider the position of *E. hainanensis* to be doubtful. It is a shrub endemic to Hainan Island of southern China, and it is distinctive in having three cyathial glands and has been postulated to be closely related to species from tropical Australasia that belong to *Euphorbia* subg. *Euphorbia* (Croizat, 1940; Dorsey & al.,

subm.). This is a rare island endemic species, and we were only able to obtain a single ITS sequence. On the other hand, the placement of *E. gueinzii* is more reliable, with both ITS and *ndhF* sequences placing it close to sect. *Crossadenia*. The phylogenetic placement of a separate accession of *E. gueinzii*, sequenced for ITS at the Smithsonian Institution, was congruent with our results (K.J. Wurdack, pers. comm.).

Although ITS data places *E. gueinzii* within sect. *Crossadenia* with moderate support, *ndhF* data moderately supports its sister relationship to sect. *Crossadenia*. The combined analysis places it within sect. *Crossadenia*, but the support for this is weak. Because of its distinctive morphology and widely disjunct South African distribution compared to the otherwise entirely Brazilian sect. *Crossadenia*, the *ndhF* placement is more likely to reflect the relationships of *E. gueinzii*. Consequently, we propose a new section for *E. gueinzii*, based on its position as sister to sect. *Crossadenia* in the *ndhF* tree. In the case of the enigmatic *E. hainanensis*, we leave it unplaced until more data are available.

Given the pattern of distribution summarized in Fig. 4 and the postulated age of *Euphorbia* (36 Ma) that would exclude Gondwanan vicariance (Bruyns & al., 2011), a possible biogeographic scenario is that New World groups in subg. *Chamaesyce* did not have a single origin from the Old World, but that sect. *Crossadenia* became established in Brazil first, and then there was a separate introduction accounting for the rest of the New World clade. Alternatively, there could have been a single long-distance dispersal from the Old World to the New World, followed by back-dispersal to the Old World. It is unclear which scenario is more likely until further information on *E. gueinzii*, *E. hainanensis* and their close relatives is available.

The (largely) New World clade. — Sister to the Old World–eastern Brazilian clade is a largely New World clade of more than 500 species. This mainly New World clade consists of three major subclades [1(2,3)]: (1) Section *Anisophyllum* is distinctive in being mostly C_4 and having a specialized growth form with early abortion of the main shoot. It is most prevalent in warm, semi-desert regions and disturbed areas worldwide, with its greatest diversity in the New World. (2) Section *Poinsettia* is characterized by reduction or loss of petaloid



Fig. 4. Cladograms comparing major clades from this study and the “backbone” phylogeny (Horn & al., 2012a). Numbers above the branches indicate maximum likelihood bootstrap percentages (MLB), and numbers below the branches are Bayesian posterior probabilities (PP). Thick branches indicate $MLB \geq 70$ and $PP \geq 0.95$, and branches in dashed lines have $MLB < 50$ and $PP < 0.80$.

gland appendages and the development of brightly colored leafy bracts subtending congested terminal synflorescences, with the whole structure resembling a large blossom. It occurs mainly in forests and desert scrub of subtropical North America. (3) Section *Alectoroctonum* corresponds largely to the former subg. *Agaloma* (Raf.) House and is predominantly composed of herbs and shrubs, but also has some pencil-stem succulents with CAM photosynthesis. All species in this group have petaloid cyathial gland appendages, and sometimes they are quite showy. This group occurs in desert scrub to moist montane forests and prairies in subtropical to temperate areas throughout the Americas.

Within this New World clade there has been a considerable divergence of classification schemes. Bruyns & al. (2006) opted to lump the entire “petaloid appendage clade” into a single section “*Chamaesyce*”. On the other hand, within the New World clade alone, there are three well-supported clades, each or part of which have been treated previously at the rank of subgenus or even genus (e.g., “*Chamaesyce*”, “*Poinsettia*”, and “*Agaloma*”; see Dressler, 1961; Koutnik, 1984; Ward, 2001). If we were to follow this tendency and recognize genera or subgenera here, we would have to break up groups in the Old World grade into separate genera or subgenera as well in order to preserve monophyly. Instead, we choose to recognize three sections within the New World clade: sect. *Poinsettia*, sect. *Anisophyllum*, and sect. *Alectoroctonum*.

• Section *Poinsettia*. – In view of our molecular results and a re-evaluation of the morphological characters of the group, we propose a broader circumscription of sect. *Poinsettia* compared to the previous treatments by Dressler (1961) and Mayfield (1997). These authors restricted the application of the name “*Poinsettia*” to what we recognize here as subsection. *Stormieae* Croizat, namely those species with deeply cup-shaped involucre glands that lack petaloid appendages and are usually one or few in number (Fig. 1K). Other characteristic features commonly found in these species include colored bracts subtending the congested terminal cymes; pandurately lobed to linear, often heteromorphic leaves with at least some serration on the margins; glandular stipules; and coarsely tuberculate seeds, sometimes with a deeply sunken caruncular facet.

The three other subsections that we recognize in sect. *Poinsettia* are successively sister to subsection. *Stormieae*, beginning with subsection. *Exstipulatae*, followed by subsection. *Erianthae*, and then subsection. *Lacerae* (Fig. 3B). These three subsections all have some kind of involucre gland appendage, but that character is variable within the entire section, and two species nested in subsection. *Stormieae*, *E. chersonesa* and *E. cornastra*, have been reported to have a rudimentary appendage on the outer lip of the glands (Huft, 1984; Mayfield, 1997). In the case of *E. bifurcata*, which is placed here in subsection. *Exstipulatae*, it would be an otherwise indistinguishable member of subsection. *Stormieae* if not for the whitish appendage of its usually single cupular gland. Except for *E. eriantha*, which was placed by Boissier (1862) in sect. *Poinsettia*, the species in the three new subsections proposed here were previously included in sect. *Zygophyllidium* (Boissier, 1862; Dressler, 1961; Huft, 1984), which is included within sect. *Alectoroctonum* in our classification.

In addition to the molecular evidence, which strongly supports the monophyly of an expanded sect. *Poinsettia* (PP 1; MLB 100), there are morphological characters that support the inclusion of the additional species in sect. *Poinsettia*, and, conversely, their exclusion from sect. *Alectoroctonum*. First are the serrate leaf margins, which are evident in all species of sect. *Poinsettia*, except *E. pinetorum*, *E. colorata*, *E. restiacea* (all in subsection. *Stormieae*), and *E. eriantha* (subsection. *Erianthae*), although teeth can usually be seen in the latter two species under magnification. These four species all have linear leaves, and their teeth may have become inconspicuous or obsolete as the leaves became narrower. On the other hand, serrate leaves are very rare in sect. *Alectoroctonum*. Both species of subsection. *Lacerae*, which is sister to the other three subsections of sect. *Poinsettia*, have serrate, heteromorphic and/or pandurate leaves, which are usually considered to be hallmarks of sect. *Poinsettia* s.str. The feathery gland appendages of subsection. *Erianthae* (Fig. 1H) are unique in the genus and bear little resemblance to any of those in sect. *Alectoroctonum*. Likewise, the two-horned gland appendages in *E. lacera* are very different from the petaloid appendages in sect. *Alectoroctonum*.

Another factor that may have confounded the recognition of an expanded sect. *Poinsettia* distinct from sect. *Alectoroctonum* in the past was the erroneous placement of *E. bilobata* in sect. *Poinsettia* in the molecular phylogeny of Steinmann & Porter (2002). *Euphorbia bilobata* is a true member of sect. *Alectoroctonum*, as shown by its placement in this study close to *E. hexagona* (the type species of Boissier’s sect. *Zygophyllidium*; Fig. 3B); a review of its morphological features shows that they are fully consistent with its placement in sect. *Alectoroctonum*. Thus the position of *E. bilobata* in Steinmann & Porter (2002) was likely due to an error.

In summary, we see no overriding morphological conflicts with sect. *Alectoroctonum* in expanding the circumscription of sect. *Poinsettia* to include the five additional species in three subsections recognized here. Within the context of the “petaloid appendage clade” (Horn & al., 2012a) to which sect. *Poinsettia* belongs, it is not surprising that the earliest diverging subsections in section *Poinsettia* would have petaloid appendages and that these were subsequently lost in subsection. *Stormieae*.

• Section *Anisophyllum*. – Boissier (1862) proposed eight subdivisions within sect. *Anisophyllum*. Since then, due to the relatively homogenous morphology and wide distribution of this group, Boissier’s classification scheme remained largely unchanged except for some minor modifications (Binojkumar & Balakrishnan, 2010). Yang & Berry’s (2011) analyses of chloroplast markers strongly supported three major subclades within sect. *Anisophyllum* [1(2,3)]: (1) the Acuta clade, with only three species endemic to southwestern U.S.A. and northern Mexico that have C₂ and C₃ photosynthesis and glandular stipules; (2) the Peplis clade, consisting of mainly glabrous, perennial herbs with entire leaf margins that all have C₄ photosynthesis and mostly endemic to the southwestern U.S.A. and northern Mexico; and (3) the Hypericifolia clade, consisting of annual and perennial herbs to woody perennials, often with toothed leaf margins and usually with some kind of pubescence, distributed worldwide, and which are also all C₄. Since

no character or character sets can readily distinguish species in the latter two clades, and nuclear markers indicate that there has been widespread reticulate evolution among members of these two clades, here we only recognize two subsections in subsect. *Anisophyllum*: the *Acuta* clade constituting subsect. *Acutae*, and all remaining species comprising subsect. *Hypericifoliae*.

• Section *Alectoroctonum*. – Classification within sect. *Alectoroctonum* is difficult due to its diversity of growth forms and the incompletely resolved phylogeny we obtained. Shrubs have evolved several times from herbaceous ancestors (Horn & al., 2012a), and morphologically similar species repeatedly turn out to belong to distinct groups in our molecular phylogeny. In addition, the majority of the deep branches in the section are short and are poorly or only moderately supported (Fig. 3B), and some well-supported branches conflict among markers (Fig. 2B). Between our ITS and *ndhF* results (Fig. 2B), the two clades marked with an asterisk are sister to each other in the *ndhF* analysis but form a grade in the ITS analysis, with each placement being well-supported. Additional gene regions such as nuclear ribosomal ETS, chloroplast *matK*, and the nuclear low-copy coding region exon 9 of *EMB2765* revealed even more extensive conflicts among well-supported clades (data not shown). Therefore, additional markers, expanded taxon sampling, and careful morphological studies are needed to better resolve relationships within sect. *Alectoroctonum* and to formally circumscribe subsections. Here we discuss informal species groups that are well supported by both morphological and molecular data, and then point out ambiguities that will require further investigation.

Clades 15-1 to 15-4 together form the basal grade of sect. *Alectoroctonum* (Fig. 3B). The majority of species in this grade occupy mid-elevation pine-oak forests in Mexico, while clade 15-1 and *E. acerensis* of clade 15-3 occur in the Caribbean and South America. *Euphorbia graminea*, also part of clade 15-3, is a widespread and variable species across warm regions of North and South America. Species in clade 15-1 are distinctive in having only two glands per cyathium (sometimes three in *E. insulana*). Clade 15-2 is endemic to Mexico and has distinctive globose-tuberous roots (Huft, 1979). However, *E. macropus*, which is another Mexican species with globose roots, is placed in clade 15-4 in our analysis, and it indeed shares morphological characters with both clade 15-2 and 15-4. Clade 15-3 is distinctive in having stalked glands and four or five glands per cyathium (sometimes also two or three in *E. graminea*); leaf shape is highly variable, and leaf margins are sometimes sinuate, instead of being entire as in most of sect. *Alectoroctonum*. Both *E. graminea* and *E. ariensis* share white, showy bracts. *Euphorbia graminea* is very similar to both species of clade 15-1 in gross morphology, but it differs from them in having glabrous instead of densely pubescent capsules (Ward, 2001). *Euphorbia graminea* is the type of sect. *Cyttarospermum* Boiss., but other species that were placed in that section by Boissier (1862) are spread over many separate clades within sect. *Alectoroctonum*. Species in clade 15-4 are characterized by opposite leaves and branches, four or five glands per cyathium, green gland appendages, and all are confined to Mexico.

Euphorbia misella appears in an isolated position, sister to clades 15-5 to 15-8 (Fig. 3B). It is a tiny fall annual herb native to high elevation pine-oak forests in Mexico. It is very similar to *E. sinaloensis* and *E. succedanea* of clade 15-5 in morphology, growth form, habitat and distribution. However, these three Mexican annuals do not form a monophyletic group in our analysis. Clade 15-5 contains mostly shrubs. Species from *E. misera* to *E. californica* have alternate branches and spirally arranged leaves on short shoots, and they all occur in desert scrub of the Sonoran Desert. In contrast, species from *E. cotinifolia* to *E. macvaughii* have verticillate leaves and branches and occupy tropical forests from Mexico to South America. Clade 15-6 corresponds to subsect. *Petaloma* Raf. ex Pax; both *E. marginata* and *E. bicolor* are annual herbs that are widely cultivated as ornamentals for their showy, white-margined bracts. Clade 15-7 corresponds to sect. *Arthrothamnus* subsect. (noted as “§” in Boissier, 1862) *Americanae* Boiss., and is characterized by dioecious pencil-stem shrubs, with opposite or whorled, ridged branches; the leaves are scale-like or caducous, and they lack stipules. Both *E. alata* and *E. cassythoides* occur in the Greater Antilles (Cuba and Jamaica, respectively). The closely related Galápagos endemic *E. equisetiformis* is also a leafless opposite-stemmed shrub, yet these three species do not form a monophyletic group in our analyses. *Euphorbia innocua* occurs in an isolated position sister to clade 15-8; it is a prostrate herb with four glands that superficially resembles sect. *Anisophyllum*; it was treated by Webster (1967) as the sole representative of sect. *Tithymalopsis* subsect. *Innocuae* G.L. Webster. Webster (1967) considered it to be intermediate between sect. *Alectoroctonum* and sect. *Anisophyllum*, but such a relationship is not supported by our analyses. Clade 15-8 largely corresponds to sect. *Tithymalopsis* subsect. *Ipecacuanhae* Boiss. (Huft, 1979; Holmgren & Holmgren, 1988). It represents the northernmost distribution for sect. *Alectoroctonum*, extending from the eastern United States north to southern Canada. Species in this group are perennial herbs with leaves that are rounded at the apex and with ovoid seeds that are rounded in cross-section, smooth or shallowly pitted on the surface, and lacking a caruncle (Huft, 1979).

Both species in clade 15-9, *E. leucocephala* and *E. caperata*, are shrubs with verticillate leaves and five involucre glands (Fig. 3B). They differ from other shrubs of sect. *Alectoroctonum* in having showy, entirely white bracts. Both species have carunculate seeds, which is otherwise rare in sect. *Alectoroctonum*. Clade 15-10 includes three species that are densely branched pencil-stem shrubs with a waxy surface, with cyathia in axillary cymes, five involucre glands with well-developed appendages, and seeds that are ovoid with a smooth surface. Between clades 15-10 and 15-11, there are two species that form part of a polytomy and whose exact affinities are unclear. One of these, *E. fulgens* (“scarlet plume”), is cultivated for its large and showy gland appendages. In the weakly supported clade 15-11, *E. bilobata* and *E. hexagona* both have only opposite leaves and branches and were formerly treated as part of sect. *Zygophyllidium* Boiss. The remaining species of sect. *Zygophyllidium* as defined by Boissier (1862) are scattered in other parts of sect. *Alectoroctonum*

and in sect. *Poinsettia* in our analyses. The other two species of clade 15-11, *E. soobyi* and *E. segoviensis*, are morphologically consistent with clade 15-13 and may prove to belong to that clade with additional data. Clade 15-12 includes shrubs with verticillate leaves and branches, deciduous leaves, and cyathia that are clustered in dense cymes and have five or six cyathial glands. Between clades 15-12 and 15-13, *E. gumaroi* is a small succulent, decumbent species that was compared to *E. antisiphilitica* in its original description (Meyrán García, 2000), but such an affinity is not supported by our molecular data. Cyathia in *E. gumaroi* are single and terminal rather than in axillary cymes as in *E. antisiphilitica*. Finally, clade 15-13 is a group of about 25 species of herbs and shrubs from warm parts of North and South America. Some species in this clade were treated as part of sect. *Cyttarospermum* Boiss. (Boissier, 1862), but the type of that section (*E. graminea*) belongs in clade 15-3. Species in clade 15-13 are characterized by having petioles that are longer than the leaf blades, five cyathial glands, often deeply lobed gland appendages, and ecarunculate seeds that are deeply pitted, with protrusions on distinctive honeycombed ridges (Fig. 1Q).

Evolution of growth forms and photosynthetic types.

— The basic structure of a *Euphorbia* plant is shown in Fig. 5A. Annual members of the genus best exemplify this architecture, as various parts of the plant may die back in perennials. Distal to the cotyledonary node, the plant sometimes develops nodes with opposite leaves and side branches. Further up the main shoot, both leaves and branches switch to being alternate. Either, neither, or both of the opposite/alternate vegetative sections can be absent. Later, the main shoot terminates with a whorl of leaves and usually an equal number of branches, concomitant with a switch to reproductive growth, which is typically a pleiochasium of cymes. In this scheme, the synflorescence in *Euphorbia* typically has three levels of organization

(Fig. 5A): (1) the cyathium itself bearing tightly packed male and/or female flowers, (2) the cyathia arranged in cymes, and (3) the cymes arranged in pleiochasia at the point of apical termination of the main stem. Despite various terminologies that have been applied to these three organization levels, here we call the leaves (or bracts when they are not green) that directly subtend a single cyathium “subcyathial bracts”, leaves/bracts at lower nodes of the synflorescence “dichasial bracts”, and the lowest whorl of leaves associated with the synflorescence “pleiochasial bracts” (Fig. 5A; Molero & Rovira, 1992).

One notable modification of the basic plant structure in *Euphorbia* is the lack of apical growth of the main shoot (Figs. 1E, 5B; Hayden, 1988). This growth form is a synapomorphy for sect. *Anisophyllum*, in which essentially the entire plant body resembles a synflorescence. Together with juvenile flowering, copious seed production, and C₄ photosynthesis, sect. *Anisophyllum* has been very successful in colonizing warm and semi-desert areas and disturbed habitats worldwide. However, both *E. remyi* and *E. halemanui*, two ascending shrubs endemic to the Hawaiian Archipelago, develop main shoots with continued apical growth and opposite leaves (Koutnik, 1987). In *E. potentilloides*, and occasionally in *E. angusta* and *E. viscoides*, the annual growth terminates in a whorl of three or more leaves before producing the terminal synflorescence (Simmons & Hayden, 1997).

Another notable example of modification in growth form is the continued elongation of main shoots with alternate or verticillate leaves and branches (Fig. 5C). In this growth form, cyathial cymes are axillary instead of arranged in a terminal whorl. This type is seen in all members of clades 15-12 and most of 15-13 of sect. *Alectoroctonum* (Figs. 1C). A further modification of this growth form occurs when stems become fleshy and photosynthetic, and leaves are deciduous or reduced; then the plants become stem succulents with alternate

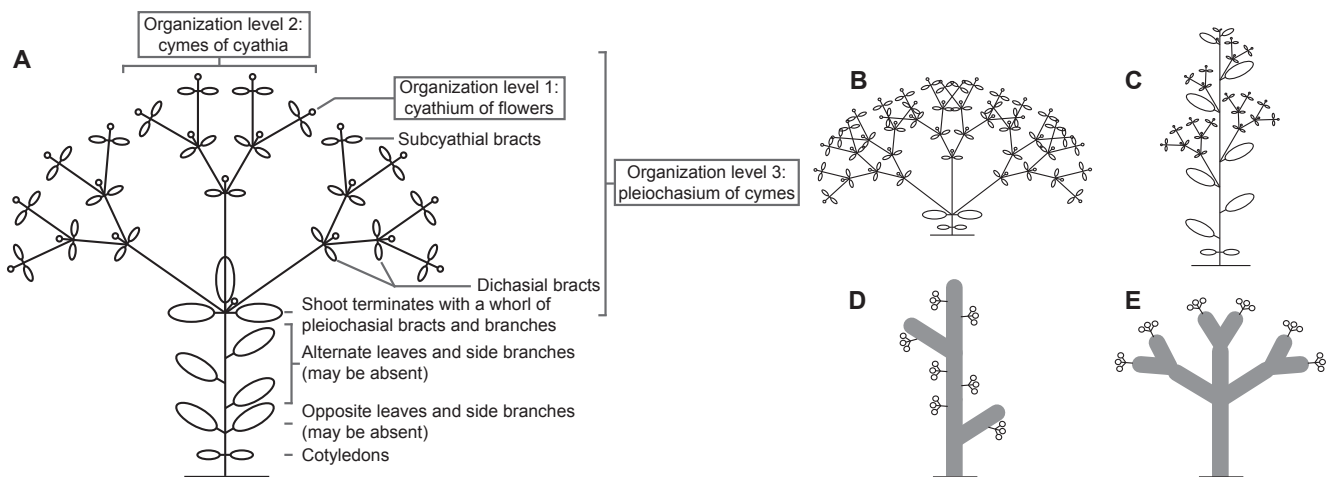


Fig. 5. Diversity of growth forms in *Euphorbia* subg. *Chamaesyce*. **A**, The basic growth form variations in *Euphorbia*, with the three synflorescence organization levels (Wheeler, 1941: pl. 655; Molero & Rovira, 1992). **B–E**, Modifications of the basic growth form: **B**, early termination of the main shoot; **C**, main shoot indeterminate and cymes axillary; **D**, similar to C but stems become succulent; and **E**, stem succulents with terminal cymes.

branching and axillary cyathia or cyathial cymes (Figs. 5D). This type of growth form is seen in sect. *Plagianthae* (*E. plagiantha*, Fig. 1A) and sect. *Alectoroctonum* (all members of clade 15-10, and *E. gradyi* of clade 15-13).

A second type of stem succulence of separate origin occurs when the main shoot terminates with a pleiochasial cyme, and both the vegetative section and the synflorescence (except for the cyathia themselves) become succulent. This way the plants have mostly dichotomous or whorled branching, with terminal cyathia or cyathial cymes (Fig. 5E). This growth form is found in all species of sect. *Articulofrutosae* (Fig. 1B), sect. *Bosseriae*, part of sect. *Crossadenia* (subsect. *Apparicianae*+*E. gymnoclada*), and part of sect. *Alectoroctonum* (clade 15-7 +*E. equisetiformis*). Perhaps a third type of succulent growth form is evident in *Euphorbia gumaroi*, which is a Mexican member of sect. *Alectoroctonum* that is unique in having alternate succulent branches with single, terminal cyathia (Fig. 1D; Meyrán García, 2000).

Euphorbia is extremely diverse in succulent growth forms, and most of the diversity in succulence is found in subg. *Euphorbia* and subg. *Rhizanthium*. Still, in subg. *Chamaesyce*, stem succulence has evolved at least six times, with multiple origins in both the Old World (southern Africa, Madagascar) and the New World (eastern Brazil, North America). Occurrences of stem succulence are usually associated with CAM photosynthesis. Stable isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$) have been tested in sect. *Articulofrutosae*, within which both *E. ephedroides* and *E. rhombifolia* have values typical of CAM plants. In sect. *Bosseriae*, *E. platyclada* was tested for $\delta^{13}\text{C}$ and has a typical CAM value; in sect. *Crossadenia*, *E. apparicana* has a ratio consistent with weak or facultative CAM expression; and in sect. *Alectoroctonum*, *E. ceroderma* (clade 15-10) has a value consistent with CAM photosynthesis (Horn & al., 2012b).

Conclusions. — *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* has been recircumscribed here based on molecular data. With taxon sampling covering nearly half of the ingroup species and a well-resolved phylogeny, we can now begin to understand evolutionary trends in a worldwide lineage with diverse growth forms and photosynthetic types. In the following treatment, we circumscribe fifteen sections that are each morphologically and geographically distinctive. This updated sectional and subsectional classification of subg. *Chamaesyce* includes descriptions and lists of accepted species for each section or subsection.

■ TAXONOMIC TREATMENT

Species with molecular sequence data available in GenBank, either published here or previously, are shown in **bold** in the “Included species” lists under each section or subsection. A searchable and downloadable list of accepted names, their synonymies, type information and distribution for *Euphorbia* is available online at <http://app.tolkin.org/projects/72/taxa> (Riina & Berry, 2012).

Euphorbia subg. *Chamaesyce* Raf. in Amer. Monthly Mag. & Crit. Rev. 2: 119. 1817 – Lectotype: *E. supina* Raf.

(= *E. maculata* L.), designated by Wheeler in Contr. Gray Herb. 127: 59. 1939.

Rafinesque did not include *E. chamaesyce* L. in his circumscription of the subgenus, therefore Art. 22.6 of the ICBN does not apply here.

Annual or perennial herbs, shrubs or trees; rarely geophytes. Stems and leaves sometimes more or less fleshy to succulent, but not cactus-like. Taproot slender or variously thickened, cylindrical to globose. Branches few to many, prostrate, decumbent, or upright; alternate, opposite and/or ternate; sometimes the apices become spine-like. Leaves alternate, opposite and/or ternate, glabrous or variously pubescent, sometimes dark green veins visible on species with C_4 photosynthesis; stipules glandular, linear, subulate, triangular, or inconspicuous. Cyathia bisexual, rarely unisexual, solitary or in cymes, axillary or terminal, sometimes subtended by green or brightly colored bracts, actinomorphic or slightly zygomorphic; glands (1–)4–5(–7), often with petaloid appendages, less often appendages horn-like, linear, or missing; ovary glabrous or pubescent; styles 3, connate or free at the base, bifid or entire. Capsules 3-lobed or less often subglobose. Seeds ovoid or oblong, 4-angled, less often 3-angled or rounded in cross-section; surface variously sculptured or smooth, carunculate or ecarunculate.

Discussion. – Within *Euphorbia* subg. *Chamaesyce*, a total of 566–574 (see discussion for sect. *Articulofrutosae*) species are recognized and distributed among 15 sections, with *E. hainanensis* Croizat sampled but left unplaced as to section. There are another 20 or so species in the process of being formally described, and there are still some unplaced species in *Euphorbia* that may prove to belong to this subgenus with further study.

Due to the high level of homoplasy of morphological character states in *Euphorbia* (Horn & al., 2012a), a key to the sections of subg. *Chamaesyce* that is of practical value needs to begin with the entire genus, in which sections can be keyed out directly instead of keying to the subgenera first. Since the taxonomic revisions for the other three subgenera are in different stages of completion, it would be premature to attempt such a key at this point.

1. *Euphorbia* sect. *Espinosa* Pax & K. Hoffm. in Engler, Veg. Erde 9 [Pflanzenw. Afrikas] 3, 2: 149. 1921 \equiv *Euphorbia* subsect. *Espinosa* (Pax & K. Hoffm.) Pax & K. Hoffm. in Engler & Prantl, Nat. Pflanzenfam., ed. 2, 19c: 213. 1931 – Type: *E. spinosa* Pax.

Shrubs to small trees, stems with a shiny or papery bark, the stem apices often drying and becoming spine-like. Leaves alternate, shortly petiolate; stipules glandular, conspicuous. Cyathia bisexual, solitary, axillary, subsessile, or on lateral short shoots, surrounded at the base by a cluster of small leaf-like or scarious bracts; glands 5, entire, yellow-green, exapendiculate (Fig. 1F); ovary subtended by a 3-lobed perianth; styles joined at the base, with spreading, bifid apices. Capsules well-exserted on a reflexed pedicel, deeply 3-lobed, glabrous. Seeds ovoid, slightly dorsiventrally compressed, smooth, with a cap-like caruncle.

Distribution and habitat. – Southern and eastern Africa (Angola, Botswana, Namibia, northern South Africa, Kenya, Malawi, Tanzania, Zambia, Zimbabwe); hilly, deciduous woodlands, 300–1400 m.

Included species (2). – *E. espinosa* Pax and *E. guerichiana* Pax.

Discussion. – There are several other sections that resemble sect. *Espinosa* in their shrubby habit, coppery bark, and sometimes spinose branches. These include *E. sect. Somalica* S. Carter, *E. sect. Lyciopsis* Boiss., the *E. balsamifera* group (all in subg. *Rhizanthium*, also from Africa); and *E. sect. Plagianthae* (subg. *Chamaesyce*, from Madagascar).

2. *Euphorbia* sect. *Articulofrucosae* Bruyns in Taxon 55: 416. 2006 – Type: *E. aequoris* N.E. Br.

Generally dioecious, semi-woody to succulent shrubs; branches dichotomous or opposite, usually much-branched from the base; branches cylindrical or variously ridged, apices drying spine-like in some species. Leaves opposite, small and often scale-like, quickly deciduous leaving a calloused scar; stipules apparently absent or glandular and conspicuous. Cyathia or cyathial cymes terminal (sometimes appearing to be axillary when borne on apex of short shoots); cymes branching few to many times, internodes progressively shorter above; subcyathial bracts and dichasial bracts spatulate or similar to the leaves, deciduous. Cyathia small, usually unisexual, subsessile; glands 5, entire, exappendiculate; styles connate at the base and free above, bifid at the tip. Capsules subsessile or exerted and recurved, glabrous or pubescent. Seeds conical, obtusely 4-angled, surface finely tuberculate, ecarunculate (Fig. 10).

Distribution and habitat. – Most diverse in the arid winter-rainfall region of western South Africa and southern Namibia, extending into southern Angola and Botswana and east to Kwa-Zulu-Natal, South Africa. Growing in sandy soils or on rock outcrops, in low shrublands to deserts and consolidated dunes, from sea level to ca. 2000 m.

Included species (18–26). – *E. aequoris* N.E. Br. [= *E. juttae* sensu Bruyns], *E. angrae* N.E. Br., *E. arceuthobioides* Boiss. [= *E. tenax* sensu Bruyns], *E. brachiata* E. Mey. ex Boiss. [= *E. rhombifolia* sensu Bruyns], *E. burmannii* E. Mey. ex Boiss., *E. caterviflora* N.E. Br. [= *E. rhombifolia* sensu Bruyns], *E. chersina* N.E. Br. [= *E. rhombifolia* sensu Bruyns], *E. einensis* G. Will. [= *E. angrae* sensu Bruyns], *E. ephedroides* E. Mey. ex Boiss., *E. exilis* L.C. Leach, *E. gentilis* N.E. Br., *E. giessii* L.C. Leach, *E. herrei* A.C. White, R.A. Dyer & B. Sloane, *E. juttae* Dinter, *E. lavranii* L.C. Leach, *E. lumbricalis* L.C. Leach [= *E. stapelioides* sensu Bruyns], *E. mundii* N.E. Br. [= *E. rhombifolia* sensu Bruyns], *E. muricata* Thunb., *E. negromontana* N.E. Br., *E. rhombifolia* Boiss., *E. spartaria* N.E. Br., *E. spinea* N.E. Br., *E. stapelioides* Boiss., *E. suffulta* Bruyns, *E. tenax* Burch., *E. verruculosa* N.E. Br.

Discussion. – This is a very well characterized group of pencil-stemmed succulents with greatly reduced and caducous leaves, and they are readily distinguished by their opposite or dichotomous branching and mostly unisexual cyathia (Fig. 1B). However, species limits in this section are unclear, and the

group is in need of a taxonomic revision. Bruyns & al. (2011) and Bruyns (in press) recognized only 18 species in this section, but we are tentatively including here a number of names that are treated as synonyms in those publications. According to the age estimates of Bruyns & al. (2011), this section diversified in southern Africa during the past 12 Ma.

3. *Euphorbia* sect. *Cheirolepidium* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 9, 70. 1862 = *Euphorbia* subsect. *Cheirolepidium* (Boiss.) Pax & K. Hoffm. in Engler, Nat. Pflanzenfam., ed. 2, 19c: 213. 1931 = *Cystidospermum* Prokh., Consp. Syst. Tithymalus Asiae Mediae: 25. 1933 = *Euphorbia* subg. *Cystidospermum* (Prokh.) Prokh. in Komarov & al., Flora U.R.S.S. 14: 480. 1949 – Type: *E. cheirolepis* Fisch. & C.A. Mey.

= *Dematra* Raf., Autik. Bot.: 96. 1840 = *Euphorbia* sect. *Dematra* (Raf.) Prokh. in Komarov & al., Flora U.R.S.S. 14: 476. 1949 – Type: *D. sericea* Raf. (= *E. petiolata* Banks & Sol.).

= *Euphorbia* subsect. *Crotonopsidae* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 101. 1862 – Type: *E. petiolata* Banks & Sol.

= *Ctenadenia* Prokh., Consp. Syst. Tithymalus Asiae Mediae: 28. 1933 – Type: *C. lanata* (Sieb.) Prokh. (= *E. petiolata* Banks & Sol.).

Annual erect herbs, well branched. Leaves and branches opposite at the base, alternate in the mid-section before the termination of apical growth and switch to dichotomous branching, with each fork subtended by dichasial bracts; leaves linear-lanceolate to elliptic or ovate, densely villous to subglabrous, margin distinctively spinulose-dentate; stipules subulate. Cyathia solitary between the forks of dichotomous branches, or few-clustered in axillary cymes; both dichasial and subcyathial bracts leaf-like but much reduced in size; glands 4 per cyathium, with deep finger-like to linear lobes, stalked (*E. cheirolepis*) or not (*E. petiolata*), yellow-green, sometimes turning red with age; styles 3, free or connate at the base, tip entire; ovary densely pubescent, 3-lobed. Capsule exerted, pubescent. Seeds 4-angled, surface tuberculate; caruncle large and stipitate in *E. petiolata* (Fig. 1M), or distinctively ligulate with two long flaps in *E. cheirolepis* (Fig. 1N).

Distribution and habitat. – From northern Africa through Central Asia; fallow fields and dry, open habitats, 500–1500 m.

Included species (2). – *E. cheirolepis* Fisch. & C.A. Mey., *E. petiolata* Banks & Sol.

Discussion. – These two species have been variously treated as members of subg. *Esula*, and they are indeed anomalous geographically among the remaining groups of subg. *Chamaesyce* (excluding sect. *Anisophyllum*). However, the presence of stipules and the pectinate cyathial glands distinguish both species from members of subg. *Esula*. The ligulate caruncle in *E. cheirolepis* is unique in *Euphorbia* (Fig. 1N, Pahlevani & Akhiani, 2011). However, it is caducous, and seeds may appear to be ecarunculate on herbarium sheets.

The pectinate protrusions appear to extend directly from the rim of the glands (Fig. 1G), unlike the petaloid appendages in the “petaloid appendage clade”, which appear to extend from the involucre and emerge from below the glands (Fig. 1I, J).

4. *Euphorbia* sect. *Eremophyton* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 9, 70. 1862 ≡ *Euphorbia* subg. *Eremophyton* (Boiss.) L.C. Wheeler in Amer. Midland Naturalist 30: 483. 1943 ≡ *Euphorbia* subsect. *Eueremophyton* (Boiss.) Pax in Engler & Prantl, Nat. Pflanzenfam. 3(5): 107. 1891 ≡ *Euphorbia* sect. *Eremophila* Benth. & F. Mueller, Fl. Austral. 6: 45. 1873, nom. illeg. (Art. 52.1) – Lectotype: *E. eremophila* A. Cunn. (≡ *E. tannensis* subsp. *eremophila* (A. Cunn.) D.C. Hassall), designated by Wheeler in Amer. Midland Naturalist 30: 483. 1943.

Annual or perennial herbs to small shrubs, glabrous to sparsely pubescent. Stems erect, multibranched; leaves and branches opposite at the base, alternate in the mid-section before the termination of apical growth and then switching to dichotomous branching, with each fork subtended by dichasial bracts. Leaves linear-lanceolate to ovate, margins serrate; stipules glandular or subulate. Cyathia solitary between the forks of dichotomous branches or few-clustered in axillary cymes, with dichasial and subcyathial bracts leaf-like but much reduced in size; glands 4, yellow, ovate, margins entire (exappendiculate) or crenate to palmatifid, ovary glabrous; styles 3, connate at the base, bifid at the tips. Capsules exserted, erect, 3-lobed. Seeds more or less 4-angled, surface tuberculate to reticulate; caruncle present, variously shaped.

Distribution and habitat. – Australia, New Caledonia, Vanuatu; coastal sands to inland desert and scrub, sea level to 600 m.

Included species (3). – *E. parvicaruncula* D.C. Hassall, *E. planiticola* D.C. Hassall, *E. tannensis* Spreng.

Discussion. – Boissier (1862) first established sect. *Eremophyton* to include three Old World species, but they now belong to three different sections in subg. *Chamaesyce*. Besides the lectotype of this section, *E. eremophila* A. Cunn., the African *E. agowensis* is placed by our analyses in sect. *Scatorhizae*, while the third species, the South African *E. gueinzii*, is placed in sect. *Gueinzieae*. Wheeler (1943) broadened the concept of sect. *Eremophyton* and elevated it to the rank of subgenus, but this was a very heterogeneous assemblage of species that is not supported by molecular data.

Hassall (1977) treated five native Australian *Euphorbia* species as forming a natural group within *Euphorbia* subg. *Eremophyton*. However, our molecular data strongly reject the monophyly of all five species: *E. stevenii* and *E. boophthona* are both nested in *E.* subg. *Euphorbia* (Dorsey & al., subm.), whereas the other three form a monophyletic group in subg. *Chamaesyce*, as treated here in a more restricted sect. *Eremophyton*. The placement of *E. boophthona* in subg. *Chamaesyce* by Zimmermann & al. (2010) was most likely an error.

5. *Euphorbia* sect. *Scatorhizae* Y. Yang & P.E. Berry, **sect. nov.** – Type: *E. scatorhiza* S. Carter.

Annual or perennial herbs, or shrubs; when woody often with peeling bark; with or without tubers. Leaves alternate basally, opposite distally, petiolate, margin entire or undulate, sometimes with gland-tipped marginal teeth at the base; stipules glandular or subulate. Cymes in 2–3-branched umbels or cyathia solitary; subcyathial bracts small to well-developed.

Cyathia sessile or subsessile, glands 4 or 5, elliptic to subcircular, exappendiculate; styles connate at the base, bifid at the tip. Ovary and capsule sessile or exserted on a recurved pedicel, 3-lobed, glabrous or pubescent. Seeds ovoid to oblong, more or less 4-angled in cross-section, dorsal-ventrally flattened, face smooth, wrinkled, or tuberculate; ecarunculate (*E. kabridarensis*) or with a large cap-like caruncle (*E. applanata*, *E. agowensis*, *E. polyantha*, *E. scatorhiza*, *E. trichiocyma*).

Distribution and habitat. – Africa (Angola, Ethiopia, Kenya, Somalia, Tanzania), Arabia (Saudi Arabia, Yemen), India; rocky or sandy scrub or deserts, 200–1850 m.

Included species (7). – *E. agowensis* Hochst. ex Boiss., *E. kabridarensis* Thulin, *E. polyantha* Pax, *E. scatorhiza* S. Carter, *E. trichiocyma* S. Carter. Species that may also belong here: *E. applanata* Thulin & Gifri, *E. suborbicularis* Thulin.

Discussion. – Section *Scatorhizae* is characterized by non-succulent herbs to shrubs, sessile or subsessile cyathia, and flattened, 4-angled seeds. All five carunculate members have been treated in *Euphorbia* subg. *Eremophyton* (Boiss.) L.C. Wheeler (Carter & Radcliffe-Smith, 1988; Thulin & Al-Gifri, 1995), while the ecarunculate *E. kabridarensis* has been treated in sect. *Lyciopsis* Boiss. (Carter, 1992).

6. *Euphorbia* sect. *Denisiae* T. Haevermans & X. Aubriot, **sect. nov.** – Type: *E. denisii* Oudejans.

Nonsucculent, low, densely branched dwarf shrubs to small trees, with rhizomes. Branches numerous, alternate, brownish green with transverse linear darker patches, twigs slightly succulent to ligneous. Leaves arranged spirally on short shoots, deciduous; blade obcordate to rounded, subpeltate with a cylindrical petiole, margin entire; stipules small, deciduous. Cyathia subsessile, bisexual, subterminal, subcyathial bracts present but extremely reduced, pubescent; glands 5, yellow-green, broadly ovate (*E. denisii*) or erect with the upper margin reclined (*E. subpeltatophylla*), exappendiculate; styles connate at base, bifid at the tip; ovary and capsule subsessile, erect, emerging from the cyathium at maturity; 3-lobed, surface smooth and glabrous. Seeds ovoid, more or less 4-angled, apex acute, surface smooth, with a small, reniform caruncle.

Distribution and habitat. – Southern Madagascar, in xerophytic vegetation, sea level to 200 m.

Included species (2). – *E. denisii* Oudejans, *E. subpeltatophylla* Rauh.

Discussion. – Species from southern Madagascar in the *E. tetraptera* clade of subg. *Euphorbia* superficially resemble *E. denisii* and have been incorrectly identified as this species (Haevermans, 2003: 137, 166).

7. *Euphorbia* sect. *Bosseriae* T. Haevermans & X. Aubriot, **sect. nov.** – Type: *E. bosseri* Leandri.

Perennial, creeping to sprawling herbs, stems succulent, with purplish dark blotches; branching monochasial or dichasial. Leaves nonsucculent, rounded and petiolate, or reduced to scales, alternate to subopposite; stipules glandular. Cyathia bisexual, solitary, terminal, pubescent, subcyathial bracts apparently lacking; glands 4 or 5, yellow-green to brown, elliptic to ovate, margin entire, exappendiculate; ovary sparsely

pubescent, subsessile and included in the cyathium cup at maturity (*E. bosseri*, *E. platyclada*) or exerted on a recurved pedicel, impairing the development of the covered gland (*E. bemarahaensis*); styles 3, connate at the base, bifid almost to the base. Capsule 3-lobed, subsessile, sparsely pubescent, surface smooth. Seeds tuberculate and pointed in *E. platyclada*; unknown in the other two species; caruncle unknown in all three species.

Distribution and habitat. – Southwestern and southern Madagascar, in xerophytic vegetation, ca. 50–500 m.

Included species (3). – *E. bemarahaensis* Rauh & R. Mangelsdorff, *E. bosseri* Leandri, *E. platyclada* Rauh.

Discussion. – These three species grow in remote areas of Madagascar and are locally rare endemics. Rauh & Mangelsdorff (1999) placed these three species in their informal “groupe d’*E. bosseri*” but without a clear idea of its affinities. Cremers (1984) believed *E. bosseri* and *E. platyclada* were related to taxa like *E. enterophora* subsp. *enterophora* (subg. *Euphorbia* sect. *Tirucalli*), due to the presence of flattened twigs in both. However, this relationship is not supported by our molecular evidence.

8. *Euphorbia* sect. *Plagianthae* T. Haevermans & X. Aubriot, **sect. nov.** – Type: *E. plagiantha* Drake.

Broom-like dioecious shrubs or trees with coppery-shiny bark peeling in papyraceous rings. Branches alternate, densely aggregated. Leaves scale-like and quickly deciduous (*E. plagiantha*) or developed and elongate (*E. salota*), distributed all along the twigs; stipules minute. Pistillate cyathia usually single, staminate cyathia in few-flowered cymes, on axillary branches (reduced in *E. plagiantha*, elongated in *E. salota*); subcyathial bracts green, inconspicuous in *E. plagiantha*, leaf-like in *E. salota*; involucre rounded, with a sunken rim and (4–)5(–6) inconspicuous glands with an entire margin, exappendiculate; ovary glabrous; styles connate at the base, bifid at the tip. Capsules 3-lobed, smooth and glabrous, oriented upward; surface smooth, green. Seeds ovoid, apex pointed, surface smooth, ecarunculate.

Distribution and habitat. – Southern Madagascar, in xerophytic and semi-xerophytic vegetation; sea level to 1000 m.

Included species (2). – *E. plagiantha* Drake, *E. salota* Leandri.

Discussion. – *Euphorbia plagiantha* is a striking tree with coppery, peeling bark and leafless, photosynthetic stems (Fig. 1A), whereas *E. salota* is a broom-like shrub. *Euphorbia plagiantha* is widely distributed in semi-xerophytic forests and shrublands, whereas *E. salota* is restricted to a few ridges around Betroka, northwest of Fort Dauphin. Both species share the features of peeling bark, dioecy, and capsules oriented upwards regardless of twig orientation. They also have cyathia with a shrunken rim bearing tiny reduced glands, and the cyathia are borne laterally on the distal part of the twigs, while the vegetative branching occurs on the basal part of the twigs. *Euphorbia plagiantha*, the only Madagascan species featuring $2n = 14$ chromosomes (Schill, 1971), was previously grouped with *E. tirucalli* (Cremers, 1984), but *E. tirucalli* belongs to subg. *Euphorbia* (Bruyns & al., 2006).

9. *Euphorbia* sect. *Frondosae* Bruyns in Taxon 55: 416. 2006 – Type: *E. goetzei* Pax.

Annual or perennial herbs, or shrubs, tuberous in perennial species. Stems terete and semi-succulent to succulent, green and photosynthetic. Leaves alternate at base, opposite above, glabrous or pubescent, deciduous, margin entire; stipules glandular, mainly on young growth (or absent). Synflorescence of 3–5-branched terminal umbels of cymes with internodes on primary rays up to 6–12 cm long, bracts similar to leaves in size and shape; cyathial glands 4(5), usually bilobed (sometimes entire), or with 2–4 suberect linear processes (*E. barbicollis*, *E. goetzei*); ovary glabrous or pubescent; styles free or connate at the base, bifid up to half their length. Capsules exerted on a reflexed pedicel; 3-lobed. Seeds ovoid to oblong, apex pointed, 4-angled in cross-section; surface wrinkled to tuberculate, with or without a caruncle; caruncle shape and size varies.

Distribution and habitat. – Eastern to southern Africa (Angola, Botswana, Ethiopia, Kenya, Malawi, Mozambique, Namibia, South Africa, Tanzania, Uganda, Zambia, Zimbabwe) and the Arabian Peninsula (Oman, Saudi Arabia, Yemen); open to dense bushland, forest, 400–2700 m.

Included species (7). – *E. barbicollis* P.R.O. Bally, *E. engleri* Pax, *E. goetzei* Pax, *E. leistneri* R.H. Archer, *E. pirottae* N. Terrac., *E. quaitensis* S. Carter, *E. transvaalensis* Schltr.

Discussion. – This group is characterized by being fleshy, stem photosynthetic herbs and shrubs. The umbellate rays are well-spaced with long internodes. Other species that might belong in this section include *E. dolichoceras* S. Carter and *E. ruficeps* S. Carter. Both have ecarunculate, tuberculate seeds and different kinds of cyathial gland appendages, but their placements need to be further investigated.

10. *Euphorbia* sect. *Tenellae* Pax & K. Hoffm. in Engler, Veg. Erde 9, [Pflanzenw. Afrikas] 3, 2: 147. 1921 – Type: *E. glauccella* Pax (= *E. glanduligera* Pax).

= *Euphorbia* subsect. *Capensis* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 66. 1862 – Type: *E. phylloclada* Boiss.

Annual or perennial herbs, stems decumbent or erect, branches few to many. Leaves all opposite, narrow to subcordate, glabrous, margin entire or denticulate; stipules subulate or inconspicuous. Cymes forking many times, bracts leaf-like. Cyathial glands 4, with petaloid appendages or exappendiculate (they may have a very thin rim on the glands); ovary glabrous or pubescent; styles free or connate at the base, tip bifid, 3-lobed. Capsule exerted on a recurved pedicel. Seeds oblong, 4-angled in cross-section, tuberculate to smooth, with a cap-like caruncle.

Distribution and habitat. – Southern Africa (Angola, Botswana, Namibia, South Africa, Zimbabwe); in open desert areas, exposed gravelly or sandy soils and rocky slopes, ca. 100–1100 m.

Included species (4). – *E. claytonioides* Pax, *E. glanduligera* Pax (incl. *E. pfeilii* Pax), *E. macra* Hiern., *E. phylloclada* Boiss.

Discussion. – This is a small, but very significant section because it is sister to the rest of the mostly New World petaloid appendage clade. Pax (1921: 147) recognized its similarities to sect. *Anisophyllum*, and Koutnik (1984) placed *E. glanduligera*

in *Chamaesyce* S.F. Gray (= sect. *Anisophyllum*) and also wondered whether *E. pfeilii* should belong here as well. *Euphorbia pfeilii* was treated as distinct from *E. glanduligera* by Carter & Leach (2001), but examination of a range of specimens shows that they are all part of a single, distinctive species. We therefore include it under *E. glanduligera*. Apart from its extremely slender leaves, *E. macra* is similar to *E. glanduligera*, but it has a woody, perennial base.

Boissier (1862) placed *E. phylloclada* in *E.* [subg. *Euphorbia*] sect. *Stachydium*, presumably because the subcyathial bracts are so congested, but in sect. *Stachydium* the plants tend to be monochasial and the leaves enclose the cyathia more completely than in *E. phylloclada*. Later, Pax (1921) placed *E. phylloclada* in *E.* sect. *Pseudacalypha* Boiss., presumably because of its axillary cyathia and herbaceous habit, but the rest of sect. *Pseudacalypha* is now placed in subg. *Rhizanthium* (Steinmann & Porter, 2002; Horn & al., 2012a). *Euphorbia claytonioides* has subcordate leaves similar to *E. phylloclada*, but its cyathial features and the glands in the leaf axils closely resemble those of *E. glanduligera*. *Euphorbia macra* appears to be the only perennial species in this group.

11. *Euphorbia* sect. *Gueinziae* Riina, sect. nov. – Type: *E. gueinzii* Boiss.

Geophyte with tuberous roots and deciduous leaves, glabrous to densely pubescent; stems simple or multiple, branching dichotomously. Leaves usually alternate on lower portion of stem, opposite at the bifurcations of the upper branches, subsessile, lanceolate to ovate-lanceolate; stipules inconspicuous, glanduliform. Cyathia bisexual, sometimes unisexual, in terminal cymes or solitary at the bifurcation of branches; glands 5, trapezoidal or oblong-ovate, the margin entire to crenulate, without petaloid appendages; ovary usually pubescent; styles 3, connate at the base, tips bifid and spreading. Capsule exerted, subglobose, 3-lobed. Seeds oblongoid, more or less 4-angled, obscurely sculptured, pale grayish, ecarunculate.

Distribution and habitat. – South Africa (Mpumalanga, Free State, KwaZulu-Natal, Eastern Cape), Lesotho, and Swaziland; grasslands on rocky slopes and above sandstone cliffs, 200–2000 m.

Included species (1). – *E. gueinzii* Boiss.

Discussion. – In his treatment of *E. gueinzii* in *Flora Capensis*, Brown & al. (1915) characterized this species as dioecious; however, Hargreaves (1992) contended that it is monoecious, sometimes presenting unisexual cyathia as well as bisexual ones. The molecular data indicate that *E. gueinzii* is related to the Brazilian *E.* sect. *Crossadenia* (Figs. 2, 3), which is consistent with its cyathial morphology and five glands, although *E. gueinzii* is quite distinct in its geophytic habit and inconspicuous cyathial glands. In the *Euphorbia* Seed Atlas (Morawetz & al., 2010), the seed shown of *E. gueinzii* was misidentified, and likely belongs to subg. *Rhizanthium*.

12. *Euphorbia* sect. *Crossadenia* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 9, 64. 1862 – Lectotype: *E. sarcodes* Boiss., designated by Wheeler in Amer. Midland Naturalist 30: 481. 1943. = *Euphorbia* sect. *Ephedropeplus* Müll. Arg. in Martius, Fl.

Bras. 11(2): 668. 1874 = *Euphorbia* subsect. *Ephedropeplus* (Müll. Arg.) Müll. Arg. ex Pax in Engler & Prantl, Nat. Pflanzenfam. 3(5): 106. 1891 – Type: *E. gymnoclada* Boiss.

Perennial herbs, small leafy shrubs, or pencil-stem shrubs, glabrous or pubescent, stems branching dichotomously or verticillately. Leaves opposite to alternate (spiral) on the lower stem, whorled at the base of umbellate rays, and opposite above, either rudimentary, minute, and soon deciduous, or well developed and persistent; stipules inconspicuous, glanduliform, rarely subulate. Cyathia terminal and axillary, arranged in short cymes or umbellate cymose rays, subtended by a pair of scale-like or foliose dichasial bracts. Involucres unisexual or bisexual, with 4 or 5 yellowish to green, appendiculate or exappendiculate glands; when present, gland appendages are short crenulate-dentate or long deeply cleft to fimbriate; ovary glabrous or pubescent; styles 3, basally connate, tips entire or bifid. Capsule well-exserted, subglobose to deeply 3-lobed. Seeds subglobose to ovoid, more or less 4-angled, apex mucronate, surface shallowly to obscurely tuberculate, rarely smooth, tubercles usually rounded (Fig. 1P), covered by a crustaceous, hydrophylic layer, ecarunculate.

Discussion. – The characteristic ornamentation of the seed coat, with low and rounded tubercles, may be a synapomorphy for this group. Boissier (1862) described the seeds of sect. *Crossadenia* as having a crustaceous caruncle, but our observations indicate that the apical part of the seed does not have a true caruncle; rather, the mucronate apex is an extension of the seed coat. The whitish layer on the outside of the seeds is hydrophilic and becomes mucilaginous when wet, much like seeds in sect. *Anisophyllum*. Both molecular data (Figs. 2 & 3) and morphological characters support the division of this group into two subsections.

Key to the subsections of *E.* sect. *Crossadenia*

- 1 Involucral glands 5, lacking appendages or with crenulate to dentate appendages <0.2 mm long 12a. subsect. *Apparicianae*
- 1 Involucral glands 4 (5 in *E. gymnoclada*), with multiple finger-like appendages 2–4 mm long 12b. subsect. *Sarcodes*

12a. *Euphorbia* subsect. *Apparicianae* Riina, **subsect. nov.** – Type: *E. apparicana* Rizzini.

Stem leaves rudimentary and soon deciduous. Involucral glands 5, gland appendages crenate to dentate, teeth <0.2 mm long, or appendages lacking (*E. flaviana*).

Distribution and habitat. – Endemic to the state of Bahia, Brazil, growing on granitic domes (inselbergs) or sandstone outcrops, 250–1200 m.

Included species (3). – *E. apparicana* Rizzini, *E. flaviana* Carn.-Torres & Cordeiro (Carneiro-Torres & al., 2012), *E. teres* M. Machado & Hofacker.

12b. *Euphorbia* subsect. *Sarcodes* Riina, **subsect. nov.** – Type: *E. sarcodes* Boiss.

Stem leaves usually well developed and persistent (rudi-

mentary and deciduous in *E. gymnoclada*). Involucral glands 4 (5 in *E. gymnoclada*) with white, finger-like appendages, teeth 2–4 mm long.

Distribution and habitat. – Endemic to eastern-central Brazil (Bahia, Goiás, Minas Gerais, Distrito Federal, Pernambuco, Piauí), in “campo rupestre” vegetation on sandy substrates and coastal “restinga”, sea level to 1400 m.

Included species (6). – *E. crossadenia* Pax & K. Hoffm., *E. goyazensis* Boiss., *E. gymnoclada* Boiss., *E. lycioides* Boiss., *E. sarcodes* Boiss., *E. sessilifolia* Klotzsch ex Boiss.

13. *Euphorbia* sect. *Anisophyllum* Roep. in Duby, Bot. Gall., ed. 2, 1: 412. 1828 ≡ *Anisophyllum* Haw., Syn. Pl. Succ.: 159. 1812, nom. illeg., non Jacq. 1763 ≡ *Chamaesyce* Gray, Nat. Arr. Brit. Pl. 2: 260. 1821 ≡ *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* (Gray) Caesalp. ex Rchb., Deut. Bot. Herb.-Buch.: 193. 1841, nom. illeg., non Raf. 1817 – Lectotype: *Euphorbia peplis* L. (≡ *Anisophyllum peplis* (L.) Haw. ≡ *Chamaesyce maritima* Gray, nom. illeg., Art. 52.1) designated by Wheeler in *Rhodora* 43: 111. 1941.

= *Aplarina* Raf., New Fl. 4: 99. 1838 – Lectotype: *A. prostrata* Raf. (= *E. prostrata* Aiton), designated by Wheeler in *Rhodora* 43: 111. 1941.

= *Ditritra* Raf., Sylva Tellur.: 115. 1838 – Lectotype: *D. hirta* (L.) Raf. (≡ *E. hirta* L.), designated by Wheeler in *Amer. Midland Naturalist* 30: 464. 1943.

= *Endoisila* Raf., Sylva Tellur.: 114. 1838 – Type: *Endoisila myrsinites* Raf. (= *E. myrtilifolia* L.). See Wheeler (in *Amer. Midland Naturalist* 30: 465. 1943) for explanation of Rafinesque’s confusion over the specific epithet of the type species.

= *Xamesike* Raf., Fl. Tellur. 4: 115. 1838 – Lectotype: *X. vulgaris* Raf. (= *E. chamaesyce* L.), designated by Wheeler in *Amer. Midland Naturalist* 30: 476. 1943.

Annual or perennial herbs, rarely subshrubs to shrubs. Branches many, dichotomous, prostrate or ascending, rarely erect; main shoot aborts above the cotyledon node (less often continues growing for a few more nodes) and lateral shoots branch dichotomously. Leaves opposite, glabrous or pubescent, base often asymmetrical; sometimes dark green veins are visible on leaf blades; margins entire or serrate; stipules interpetiolar, glandular, linear, or subulate to triangular. Cyathia solitary at the bifurcation of branches or clustered in axillary cymes; glands 4, rarely 5–7; appendages present or absent, petaloid when present; styles 3, free or connate at the base, tip bifid, rarely entire; ovary and capsule glabrous or pubescent. Seed surface with transverse ridges, smooth, or with irregular wrinkles; 4-angled (rarely 3-angled or rounded), ecarunculate. C₂, C₃ or C₄ photosynthesis.

Distribution and habitat. – Warm, arid and semi-arid vegetation or disturbed habitats, and summer annuals of temperate areas; nearly worldwide, sea level to 4000 m.

Discussion. – Section *Anisophyllum* is characterized by its specialized growth form with early abortion of the main shoot and with the lateral shoots producing exclusively opposite leaves. All but three species in the section have C₄ photosynthesis.

Key to the subsections of *E. sect. Anisophyllum*

- 1 Stipules glandular; leaf cross-section without typical Kranz anatomy; cyathial gland appendages crenate and fan-shaped; Texas, New Mexico, and northern Mexico 13a. subsect. *Acutae*
- 1 Stipules subulate, triangular or ciliate, non-glandular; leaf cross-section with Kranz anatomy; cyathial gland appendages absent or present (variously shaped); widespread distribution 13b. subsect. *Hypericifoliae*

13a. *Euphorbia* subsect. *Acutae* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 18. 1862 – Type: *E. acuta* Engelm.

Perennial, pubescent herbs with a thickened woody taproot. Stems prostrate, arching, ascending to erect. Leaves opposite, or occasionally annual shoots terminate with a whorl in *E. angusta*; margin entire; stipules glandular. Cyathia solitary at the bifurcation of branches; glands 4, appendages fan-shaped, equal in size; ovary and capsule pubescent, 3-lobed; styles bifid. Seeds ovoid, 4-angled; face smooth, with irregular shallow depressions, or obscurely transversely rugose. C₂ or C₃ photosynthesis.

Distribution and habitat. – U.S.A. (western Texas) and Mexico (Coahuila, Durango, Tamaulipas); grassland to desert scrub in and around the Chihuahuan Desert on sandy or gravelly limestone substrates, 200–1500 m.

Included species (3). – *E. acuta* Engelm., *E. angusta* Engelm., *E. johnstonii* Mayfield.

Discussion. – Subsection *Acutae* is diagnosed within the section by having glandular stipules and lacking C₄ photosynthesis.

13b. *Euphorbia* subsect. *Hypericifoliae* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 20. 1862 – Type: *E. hypericifolia* L.

= *Euphorbia* subsect. *Chamaesyce* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 27. 1862, nom. illeg. per ICBN Art. 53.4 – Type: *E. chamaesyce* L.

= *Euphorbia* subsect. *Cheloneae* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 16. 1862 – Lectotype: *E. nummularia* Hook. f., designated by Wheeler in *Rhodora* 43: 111. 1941.

= *Euphorbia* subsect. *Elegantes* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 18. 1862 – Type: *E. elegans* Spreng.

= *Euphorbia* subsect. *Gymnadeniae* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 11. 1862 ≡ *Chamaesyce* subsect. *Gymnadeniae* (Boiss.) Koutnik in *Allertonia* 4: 338. 1987 – Lectotype: *E. clusiifolia* Hook. & Arn., designated by Wheeler in *Amer. Midland Naturalist* 30: 480. 1943.

= *Euphorbia* subsect. *Pleiadeniae* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 50. 1862 – Lectotype: *E. selloi* (Klotzsch & Garcke) Boiss., designated by Wheeler in *Amer. Midland Naturalist* 30: 480. 1943.

= *Euphorbia* subsect. *Sclerophyllae* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 12. 1862 ≡ *Euphorbia* sect. *Sclerophyllae* (Boiss.) Binojk. & N.P. Balakr., *Genus Euphorbia India*: 201. 2010 ≡ *Chamaesyce* Gray sect. *Sclerophyllae* (Boiss.) Hurusawa in *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sect. 3, Bot.* 6: 275. 1954 – Lectotype: *E. atoto* G. Forst., designated by Wheeler in *Amer. Midland Naturalist* 30: 480. 1943.

= *Euphorbia* sect. *Longistylae* Binojk. & N.P. Balakr., Genus *Euphorbia* India: 178. 2010 – Type: *E. longistyla* Boiss.

Annual or perennial herbs, rarely subshrubs to shrubs. Branches many, dichotomous, prostrate or ascending, rarely erect; main shoot aborts above the cotyledon node (less often continues elongation) and lateral shoots branch dichotomously. Leaves opposite, glabrous or pubescent, base often asymmetrical; sometimes dark green veins are visible on leaf blades (Kranz anatomy); margins entire or serrate; stipules interpetiolar, linear, subulate to triangular. Cyathia solitary at the bifurcation of branches, or clustered in axillary cymes; glands 4, rarely 5–7; appendages present or absent, petaloid when present, equal or unequal in size; styles 3, free or connate at the base, tip bifid, rarely entire; ovary and capsule glabrous or pubescent. Seed surface with transverse ridges, smooth, or with irregular wrinkles; 4-angled (rarely 3-angled or rounded). C_4 photosynthesis.

Distribution and habitat. – Warm, arid and semi-arid vegetation or disturbed habitats, and summer annuals in temperate areas; worldwide, from sea level to 4000 m.

Included species (365). – *E. abdita* (D.G. Burch) Radcl.-Sm., *E. abdulghafooriana* Abedin, *E. abramsiana* L.C. Wheeler, *E. adenoptera* Bertol., *E. alainii* Oudejans, *E. alato-caulis* V.W. Steinm. & Felger, *E. albomarginata* Torr. & A. Gray, *E. allocarpa* S. Carter, *E. alsiniflora* Baill., *E. alsinifolia* Boiss., *E. amandi* Oudejans, *E. amplexicaulis* Hook. f., *E. anisopetala* (Prokh.) Prokh., *E. anthonyi* Brandegee, *E. anychioides* Boiss., *E. apatzingana* McVaugh, *E. apicata* L.C. Wheeler, *E. arabica* Hochst. & Steud. ex Anderson, *E. arabicoides* N.E. Br., *E. arenarioides* Gagnep., *E. argillosa* Chodat & Hassl., *E. arizonica* Engelm., *E. armstrongiana* Boiss., *E. arnottiana* Endl., *E. articulata* Aubl., *E. astyla* Engelm. ex Boiss., *E. atoto* G. Forst., *E. atrococca* A. Heller, *E. australis* Boiss., *E. austrooccidentalis* Thell., *E. bahiensis* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. balakrishnanii* Binojk. & Gopalan, *E. bartolomaei* Greene, *E. baueri* Engelm. ex Boiss., *E. berteriana* Balb. ex Spreng., *E. besseri* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. biconvexa* Domin, *E. bifida* Hook. & Arn., *E. bindloensis* (Stewart) Y. Yang, *E. blodgettii* Engelm. ex Hitchc., *E. boliviana* Rusby, *E. bombensis* Jacq., *E. bracteolaris* Boiss., *E. brandegeei* Millsp., *E. bruntii* (Proctor) Oudejans, *E. burchellii* Müll. Arg., *E. burmanica* Hook. f., *E. calderoniae* V.W. Steinm., *E. camagueyensis* (Millsp.) Urb., *E. capillaries* Gagnep., *E. capitellata* Engelm., *E. carissoides* F.M. Bailey, *E. carunculata* Waterf., *E. catamarcensis* (Croizat) Subils, *E. cayensis* Millsp., *E. celastroides* Boiss., *E. centralis* B.G. Thomson, *E. centunculoides* Kunth, *E. chaetocalyx* (Boiss.) Tidestr., *E. chamaerhodos* Boiss., *E. chamaesyce* L., *E. chamaesycoides* B. Nord., *E. chamberlinii* I.M. Johnst., *E. chamissonis* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. cinerascens* Engelm., *E. clarkeana* Hook. f., *E. clavidigitata* Gage, *E. clusiifolia* Hook. & Arn., *E. coccinea* B. Heyne ex Roth, *E. coghlanii* F.M. Bailey, *E. compressa* Boiss., *E. concanensis* M.K. Janarth. & S.R. Yadav, *E. conferta* (Small) B.E. Sm., *E. convolvuloides* Hochst. ex Benth., *E. cordifolia* Elliott, *E. corrigioloides* Boiss., *E. cowellii* (Millsp. ex Britton) Oudejans, *E. cozumelensis* Millsp., *E. crassinodis* Urb., *E. crepitata*

L.C. Wheeler, *E. crepuscula* (L.C. Wheeler) V.W. Steinm. & Felger, *E. cristata* B. Heyne ex Roth, *E. cumbrae* Boiss., *E. cumlicola* (Small) Oudejans, *E. dallachyana* Baill., *E. deccanensis* V.S. Raju, *E. degeneri* Sherff, *E. delicatissima* S. Carter, *E. deltoidea* Engelm. ex Chapm., *E. densiflora* (Klotzsch and Garcke) Klotzsch, *E. dentosa* I.M. Johnst., *E. deppeana* Boiss., *E. derickii* V.W. Steinm., *E. diminuta* S. Carter, *E. dioeca* Kunth, *E. drummondii* Boiss., *E. duckei* (Croizat) Oudejans, *E. eichleri* Müll. Arg., *E. eleanoriae* (D.H. Lorence & W.L. Wagner) Govaerts, *E. elegans* Spreng., *E. engelmannii* Boiss., *E. erythroclada* Boiss., *E. eylesii* Rendle, *E. feddema* McVaugh, *E. fendleri* Torr. & A. Gray, *E. fischeri* Pax, *E. flindersica* Halford & W.K. Harris, *E. floribunda* Engelm. ex Boiss., *E. florida* Engelm., *E. foliolosa* Boiss., *E. fosbergii* (J. Florence) Govaerts, *E. fruticulosa* Engelm. ex Boiss., *E. galapageia* B.L. Rob. & Greenm., *E. garanbiensis* Hayata, *E. garberi* Engelm. ex Chapm., *E. gaudichaudii* Boiss., *E. geyeri* Engelm. & A. Gray, *E. glyptosperma* Engelm., *E. goliana* Comm. ex Lam., *E. golondrina* L.C. Wheeler, *E. gracillima* S. Watson, *E. grammata* (McVaugh) Oudejans, *E. grandidieri* Baill., *E. granulata* Forssk., *E. guanarensis* Pittier, *E. hajhiensis* Radcl.-Sm., *E. halemanui* Sherff, *E. heleniana* Thell. & Stapf, *E. helwigii* Urb. & Ekman, *E. hepatica* Urb. & Ekman, *E. herbstii* (W.L. Wagner) Oudejans, *E. heyneana* Spreng., *E. hildebrandtii* Baill., *E. hirta* L., *E. hirtella* Boiss., *E. hispida* Boiss., *E. hooveri* L.C. Wheeler, *E. hsinchuensis* (S.C. Lin & S.M. Chaw) C.Y. Wu & J.S. Ma, *E. humbertii* Denis, *E. humifusa* Willd., *E. humistrata* Engelm. ex A.Gray, *E. hunzikeri* Subils, *E. hypericifolia* L., *E. hyssopifolia* L., *E. inaequilatera* Sond., *E. inaguaensis* Oudejans, *E. inappendiculata* Domin, *E. incerta* Brandegee, *E. indica* Lam., *E. indivisa* (Engelm.) Tidestr., *E. infernidialis* V.W. Steinm., *Euphorbia inflexa* Urb. & Ekman, *Euphorbia jaegeri* V.W. Steinm. & J. André, *E. jamesonii* Boiss., *E. jejuna* M.C. Johnst. & Warnock, *E. johhpurensis* Blatt. & Hallb., *E. karibensis* S. Carter, *E. katrajensis* Gage, *E. kerstingii* Pax, *E. kilwana* N.E. Br., *E. kimberleyensis* B.G. Thomson, *E. kischenensis* Vierh., *E. klotzschii* Oudejans, *E. kuriensis* Vierh., *E. kuwaleana* O. Deg. & Sherff, *E. laciniata* Panigrahi, *E. laredana* Millsp., *E. lasiocarpa* Klotzsch, *E. lata* Engelm., *E. lawsonii* Binojkumar & Dwarakan, *E. lech-eoides* Millsp., *E. leonardii* (D.G. Burch) Radcl.-Sm., *E. leptoclada* Balf.f., *E. leucantha* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. leucophylla* Benth., *E. lineata* S. Watson, *E. linguiformis* McVaugh, *E. lissosperma* S. Carter, *E. liukiensis* Hayata, *E. livida* E. Mey. ex Boiss., *E. loandensis* N.E. Br., *E. longin-sulicola* S.R. Hill, *E. longistyla* Boiss., *E. lupatensis* N.E. Br., *E. lutulenta* (Croizat) Oudejans, *E. luzoniensis* Merr., *E. macgillivrayi* Boiss., *E. machrisiae* Steyerl., *E. maconochieana* B.G. Thomson, *E. maculata* L., *E. magdalenae* Benth., *E. makinoides* Hayata, *E. marayensis* Subils, *E. meganaeos* Featherman, *E. melanadenia* Torr. & A. Gray, *E. mendezii* Boiss., *E. mertonii* Fosberg, *E. mesembryanthemifolia* Jacq., *E. meyeniana* Klotzsch, *E. microcephala* Boiss., *E. micromera* Boiss., *E. minbuensis* Gage, *E. minutula* Boiss., *E. missurica* Raf., *E. mitchelliana* Boiss., *E. mossambicensis* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. mossamedensis* N.E. Br., *E. muelleri* Boiss., *E. multiformis* Gaudich. ex Hook. & Arn., *E. multinodis* Urb.,

E. myrtilifolia L., *E. neocaledonica* Boiss., *E. neopolycnemoides* Pax & K. Hoffm., *E. nocens* (L.C. Wheeler) V.W. Steinm., *E. nodosa* Houtt., *E. notoptera* Boiss., *E. nummularia* Hook. f., *E. nutans* Lag., *E. obliqua* F.A. Bauer ex Endl., *E. occidentaustralica* Radcl.-Sm. & Govaerts, *E. ocellata* Durand & Hilg., *E. olowaluana* Sherff, *E. ophiolitica* (P.I. Forst.) Y. Yang, *E. ophthalmica* Pers., *E. oranensis* (Croizat) Subils, *E. orbiculata* Kunth, *E. orbifolia* (Alain) Oudejans, *E. originoides* L., *E. oxycoccoides* Boiss., *E. pancheri* Baill., *E. parciflora* Urb., *E. paredonensis* (Millsp.) Oudejans, *E. parishii* Greene, *E. parkeri* Binojkumar & N.P. Balakr., *E. parryi* Engelm., *E. parva* N.E. Br., *E. parviflora* L., *E. pediculifera* Engelm., *E. pellegrinii* Leandri, *E. peninsularis* I.M. Johnst., *E. peplis* L., *E. perennans* (Shinners) Warnock & M.C. Johnst., *E. pergamena* Small, *E. pergracilis* P.G. Mey., *E. perlignea* McVaugh, *E. peruviana* L.C. Wheeler, *E. petrina* S. Watson, *E. picachensis* Brandegee, *E. pilosissima* S. Carter, *E. pionsperma* V.W. Steinm. & Felger, *E. platysperma* Engelm. ex S. Watson, *E. podadenia* Boiss., *E. polycarpa* Benth., *E. polycnemoides* Hochst. ex Boiss., *E. polygonifolia* L., *E. pondii* Millsp., *E. porteriana* (Small) Oudejans, *E. portucasadiana* (Croizat) Subils, *E. potentilloides* Boiss., *E. potosina* Fernald, *E. proctori* (D.G. Burch) Correll, *E. prostrata* Aiton, *E. psammogeton* P.S. Green, *E. pueblensis* Brandegee, *E. punctulata* Andersson, *E. pycnostegia* Boiss., *E. quitensis* Boiss., *E. radioloides* Boiss., *E. ramosa* Seaton, *E. rayturneri* V.W. Steinm. & E. Jercinovic, *E. reconciliationis* Radcl.-Sm., *E. recurva* Hook. f., *E. remyi* A. Gray ex Boiss., *E. reniformis* Blume, *E. revoluta* Engelm., *E. rhytisperma* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. riebeckii* Pax, *E. rivae* Pax, *E. rochaensis* (Croizat) Alonso Paz & Marchesi, *E. rockii* C.N. Forbes, *E. rosea* Retz., *E. rubriflora* N.E. Br., *E. ruiziana* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. ruizlealii* Subils, *E. rutilis* (Millsp.) Standl. & Steyerl., *E. sabulicola* Boiss., *E. sachetiana* (J. Florence) Govaerts, *E. salsicola* S. Carter, *E. salsuginosa* (McVaugh) Radcl.-Sm. & Govaerts, *E. sanmartensis* Rusby, *E. scabrifolia* Kurz, *E. schizolepis* F. Muell. ex Boiss., *E. schlechteri* Pax, *E. schultzii* Benth., *E. schumannii* Radcl.-Sm., *E. schweinfurthii* Balf.f., *E. scopulorum* Brandegee, *E. scordiifolia* Jacq., *E. sebastinei* Binojk. & N.P. Balakr., *E. seleri* Donn. Sm., *E. selloi* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. selousiana* S. Carter, *E. senguptae* N.P. Balakr. & Subr., *E. serpens* Kunth, *E. serpyllifolia* Pers., *E. serratifolia* S. Carter, *E. serrula* Engelm., *E. setiloba* Engelm. ex Torr., *E. setosa* (Boiss.) Müll. Arg., *E. sharkoensis* Baill., *E. simulans* (L.C. Wheeler) Warnock & M.C. Johnst., *E. skottsbergii* Sherff, *E. sparrmanii* Boiss., *E. sparsiflora* A. Heller, *E. spellenbergiana* Mayfield & V.W. Steinm., *E. spissiflora* S. Carter, *E. standleyi* (Millsp.) Oudejans, *E. stictospora* Engelm., *E. stoddartii* Fosberg, *E. subterminalis* N.E. Br., *E. sumbawensis* Boiss., *E. taihienensis* (Chaw & Koutnik) Oudejans, *E. taluticola* Wiggins, *E. tamanca* Boiss., *E. tamaulipasana* (Millsp.) Oudejans, *E. tetensis* Klotzsch, *E. theriaca* L.C. Wheeler, *E. thymifolia* L., *E. tinianensis* Hosok., *E. tomentella* Engelm. ex Boiss., *E. tomentulosa* S. Watson, *E. torralbasii* Urb., *E. trachysperma* Engelm., *E. truncapatae* (Croizat) J.F. Macbr., *E. trialata* (Huft) V.W. Steinm., *E. trichophylla* Baker, *E. trinervia*

Schumach. & Thonn., *E. tumistyla* (D.G. Burch) Radcl.-Sm., *E. turpinii* Boiss., *E. umbellulata* Engelm. ex Boiss., *E. vaginulata* Griseb., *E. vallis-mortae* (Millsp.) J.T. Howell, *E. vautheriana* Boiss., *E. velleriflora* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. velligera* Schauer, *E. vermiculata* Raf., *E. vestita* Boiss., *E. vezorum* Leandri, *E. viatilis* Ule, *E. villifera* Scheele, *E. viminea* Hook. f., *E. viridula* Cordem. ex Radcl.-Sm., *E. viscoides* Boiss., *E. wheeleri* Baill., *E. yucatanensis* (Millsp.) Standl., *E. zambesiana* Benth.

Discussion. – Old World species of subsect. *Hypericifoliae* are relatively understudied and there may be additional species to be described as well as others to be placed in synonymy. Currently David Halford (BRI) is revising the group in Australia and has numerous new species he plans to name and publish as part of that revision.

The following combinations are made here to recognize the taxa at the appropriate rank within *Euphorbia*:

Euphorbia bindloensis (Stewart) Y. Yang, **comb. nov.** ≡ *Euphorbia articulata* var. *bindloensis* Stewart in Proc. Calif. Acad. Sci., ser. 4, 1: 91. 1911 ≡ *Chamaesyce bindloensis* (Stewart) D.G. Burch in Ann. Missouri Bot. Gard. 56: 176. 1969 – Type: Ecuador. Galapagos: Bindloe Island, Stewart 1968 (holotype: GH).

Euphorbia deltoidea subsp. *serpyllum* (Small) Y. Yang, **comb. nov.** ≡ *Chamaesyce serpyllum* Small, Fl. Florida Keys: 81. 1913 ≡ *Chamaesyce deltoidea* subsp. *serpyllum* (Small) D.G. Burch in Ann. Missouri Bot. Gard. 53: 99. 1966 ≡ *Euphorbia deltoidea* var. *serpyllum* (Small) Oudejans in Phytologia 67: 45. 1989 – Type: U.S.A. Florida: Big Pine Key, Monroe County, J.K. Small 3811 (holotype: NY). — This new combination is made to be consistent in recognizing four subspecies within the *Euphorbia deltoidea* complex.

Euphorbia ophiolitica (P.I. Forst.) Y. Yang, **comb. nov.** ≡ *Chamaesyce ophiolitica* P.I. Forst. in Austrobaileya 5: 711. 2000 – Type: Australia. Queensland: Port Curtis District, P.I. Forster 15042 (holotype: BRI).

14. *Euphorbia* sect. *Poinsettia* (Graham) Baill., Étude Euphorb.: 284. 1858 ≡ *Poinsettia* Graham in Edinburgh New Philos. J. 20: 412. 1836 ≡ *Euphorbia* subg. *Poinsettia* (Graham) House in Bull. New York State Mus. Nat. Hist. 254: 473. 1924 – Type: *Poinsettia pulcherrima* (Willd.) Graham (≡ *E. pulcherrima* Willd.).

= *Cyathophora* Raf., Fl. Tellur. 4: 117. 1838 – Type: *C. heterophylla* (Raf.) L. (≡ *E. heterophylla* L.).

= *Pleuradena* Raf., Atlantic J. 1: 182. 1833 ≡ *Euphorbia* subg. *Pleuradena* (Raf.) Croizat in Revista Sudamer. Bot. 6: 10. 1939 – Type: *Pleuradena coccinea* Raf. (= *E. pulcherrima* Willd.).

Annual or perennial herbs, shrubs, or small trees, from a taproot or tuber. Earliest developing leaves and branches opposite, middle to upper nodes alternate or opposite/whorled, blades usually markedly to finely serrate, rarely entire, sometimes markedly heteromorphic; stipules minute, glanduliform,

often inconspicuous. Cyathia few to many in usually congested, terminal cymes, sometimes appearing corymbiform, leafy bracts sometimes whitish to bright red at the base or on the entire blade; cyathial glands 1–5(–8), slightly concave to deeply cupped, bilabiate, or circular, appendages lacking or present and variously shaped; styles 3, free or connate at the base, tip entire or bifid; ovary and capsule glabrous or pubescent, 3-lobed. Seeds 4-angled to rounded, sharply 4-angled to somewhat rounded in cross-section, usually truncate apically, variously tuberculate, with or without a caruncle.

Discussion. – Species of the first two diverging subsections (subsects. *Lacerae* and *Erianthae*) are distinct in their large caruncles and sharply 4-angled seeds. The seeds of subsect. *Exstipulatae*, in contrast, are similar to many of those in subsect. *Stormieae*, which have a coarsely tuberculate surface, more ovoid shape, and are either carunculate or ecarunculate. See additional discussion in the main text for an expanded justification for the broadened circumscription of sect. *Poinsettia*.

Key to the subsections of *E. sect. Poinsettia*

- 1 Leaves linear, mostly entire; involucre glands densely appressed-pubescent, with lacinate, pubescent appendages that arch upwards and inwards over the gland 14b. subsect. *Erianthae*
- 1 Leaves linear to pandurate and usually toothed (entire in *E. colorata*); involucre glands either lacking appendages or the appendages not covering the glands 2
- 2 Involucre glands 4, appendages either horned or petaloid and green with crenate margins; styles entire; seeds sharply 4-angled, finely tuberculate, with a prominent stipitate caruncle nearly as wide as the seed 14a. subsect. *Lacerae*
- 2 Involucre glands 1–5(–8), lacking appendages or, if present, then appendages whitish (green and obsolete in *E. chersonesa*), petaloid and not horned; styles bifid; seeds not sharply 4-angled, apically depressed on the ventral side, coarsely tuberculate, either ecarunculate or with a small caruncle much narrower than the seed 3
- 3 Involucre glands with whitish appendages 14c. subsect. *Exstipulatae*
- 3 Involucre glands without appendages (or obsolete greenish appendages in *E. chersonesa*) ... 14d. subsect. *Stormieae*

14a. *Euphorbia* subsect. *Lacerae* Y. Yang & P.E. Berry, **subsect. nov.** – Type: *Euphorbia lacera* Boiss.

Annual herbs from a taproot. Leaves linear-lanceolate to pandurate, often heteromorphic, noticeably serrate, opposite at lowest nodes, then alternate in the mid-section, the shoot terminating with a whorl of leaves below the fertile branches; stipules absent or glandular. Cyathia in terminal, congested, few-cyathiate cymes, subtended by opposite leaves; glands 4, stipitate, laterally compressed and concave; appendages horned, or petaloid and green with crenate margins; styles entire; ovary and capsule oblong-ovoid. Seeds 4-angled, apically angled, finely tuberculate, with a prominent stipitate caruncle nearly as wide as the seed itself.

Distribution and habitat. – Central and western Mexico; xerophytic scrub, wooded ravines, 900–2500 m.

Included species (2). – *E. jaliscensis* B.L. Rob. & Greenm., *E. lacera* Boiss.

Discussion. – The pandurate, serrate leaves of *E. jaliscensis* are remarkably similar to those found in *E. heterophylla* or *E. cyathophora*, and the leaves of *E. lacera* are also polymorphic. Both species in this section have cupped, stipitate involucre glands. In both cases, the appendages are green and somewhat fleshy, although they are much reduced and almost obsolete in the type of *E. jaliscensis* var. *durangensis* Millsp. *Euphorbia lacera* was initially placed by Boissier (1862) in *E. sect. Zygothylidium*, together with *E. exstipulata* in an undesignated subcategory of § *Carunculatae* Boiss. The rest of Boissier's section consists of § *Ecarunculatae* Boiss., with two species that belong now to sect. *Alectorroctonum*, *E. bilobata* and *E. hexagona*.

14b. *Euphorbia* subsect. *Erianthae* Y. Yang & P.E. Berry, **subsect. nov.** – Type: *Euphorbia eriantha* Benth.

Annual or short-lived, pubescent, perennial herbs from a taproot. Branches few to many from the base. Leaves linear, appearing entire but usually with a few inconspicuous teeth towards the apex, opposite at basal-most node, alternate in the mid-section; stipules inconspicuous, minute and glanduliform, at the base of the petiole. Cyathia in terminal, congested, few-cyathiate cymes, subtended by opposite or ternate, leaf-like bracts; glands (2–)4–5, protruding from the outer, upper edge of the involucre, shallowly concave; gland appendages elongate, lacinate, densely covered with white, appressed trichomes, arching over and concealing the glands (Fig. 1H); styles free at the base, apex entire, purple; ovary and capsule canescent, obloid or ovoid. Seeds 4-angled, coarsely tuberculate, covered with a white, crustaceous coating, with a circular caruncle about half as wide as the seed.

Distribution and habitat. – Southeastern U.S.A. (Arizona, California, New Mexico, Texas) and northern Mexico (Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Durango, Sonora); desert scrub and thorn scrub on rocky slopes and along washes, sea level to 900 m.

Included species (1). – *E. eriantha* Benth.

Discussion. – This subsection contains a single species that is unique because of its unusual cyathial gland appendages that curl over the gland towards the inside of the cyathium (Fig. 1H).

14c. *Euphorbia* subsect. *Exstipulatae* Y. Yang & P.E. Berry, **subsect. nov.** – Type: *E. exstipulata* Engelm.

Small, annual herbs from a slender taproot, with opposite, arcuate branching. Leaves linear to ovate, serrate, opposite throughout or with some alternate leaves in the mid-stem section in *E. bifurcata*. Cyathia in terminal, congested few-cyathiate cymes; glands 1–4(–5), oblong to circular, stipitate, laterally compressed and concave, appendages entire, undulate, or divided into triangular segments; styles bifid; ovary and capsule glabrous or pubescent on the keels, 3-lobed. Seeds broadly ovoid, apically depressed on the ventral side, quadrangular to rounded in cross-section, coarsely tuberculate with 2 transverse

ridges and a tiny, reniform caruncle (in *E. exstipulata*), or warty-papillate without an evident caruncle (*E. bifurcata*).

Distribution and habitat. – Southwestern U.S.A. to southern Mexico; desert scrub, grasslands, oak forest, riparian areas, 800–2300 m.

Included species (2). – *E. bifurcata* Engelm., *E. exstipulata* Engelm.

Discussion. – *Euphorbia bifurcata* is very similar to many species in subsect. *Stormieae* in its normally single cupulate gland, some subcyathial bracts that are whitish at the base, and its ecarunculate, verrucose seeds. *Euphorbia exstipulata* was initially placed by Boissier (1862) in *E. sect. Zygothylidium*, together with *E. lacera* in a subdivision named § *Carunculatae* Boiss.

14d. *Euphorbia* subsect. *Stormieae* Croizat in Revista Sudamer. Bot. 6: 13. 1939 – Type: *Euphorbia stormiae* Croizat (≡ *E. radians* Benth. var. *stormiae* (Croizat) Rzed. & Calderón).

Annual or perennial herbs, shrubs or small trees. Branches opposite; leaves opposite at the epicotyledonary node, leaves and branches often alternate in the mid-section of plant, and then opposite or whorled in the synflorescence; leaves subtending the synflorescence often brightly colored. Cyathia in terminal, usually dense, sometimes monochasial cymes; involucre glands 1–5(–8), deeply to shallowly cupped and stalked, exappendiculate; styles 3, free or connate at the base, bifid to about 1/2 their length from the apex, rarely entire or with only the very apex forked; ovary and capsule glabrous or pubescent, 3-lobed. Seeds ovoid, quadrangular or somewhat rounded in cross-section, usually coarsely and unevenly tuberculate, or the tubercles disposed in one or more transverse, dorsal rows; ecarunculate, or caruncle variously shaped.

Distribution and habitat. – Widespread in the New World, from Canada to Argentina, but with a center of distribution in Mexico; in a wide variety of habitats from desert scrub to moist montane forests, sea level to 2700 m.

Included species (21). – *E. chersonesa* Huft, *E. colorata* Engelm., *E. cornastra* (Dressler) Radcl.-Sm., *E. cuphosperma* (Engelm.) Boiss., *E. cyathophora* Murray, *E. davidii* Subils, *E. dentata* Michx., *E. elliptica* Lam., *E. heterophylla* L., *E. hormorrhiza* Radcl.-Sm., *E. kurtzii* Subils, *E. pentadactyla* Griseb., *E. pinetorum* (Small) G.L. Webster, *E. pulcherrima* Willd., *E. pumicola* Huft, *E. radians* Benth., *E. restiacea* Benth., *E. schiedeana* (Klotzsch & Garcke) Mayfield ex C. Nelson, *E. strigosa* Hook. & Arn., *E. tubadenia* Mayfield ex Y. Yang, *E. zonosperma* Müll. Arg.

Discussion. – This subsection is the most diverse in sect. *Poinsettia* in terms of distribution, habit, and species number. It includes the species that Dressler (1961) included in *Poinsettia*, and those in *Euphorbia* subg. *Poinsettia* sensu Mayfield (1997), with the addition of *E. chersonesa*, which Huft (1984) thought belonged to sect. *Alectorroctonum* because of its vestigial involucre gland appendages and relatively flat glands. Vestigial green gland appendages were reported in *E. chersonesa* and *E. cornastra* (Huft, 1984; Mayfield, 1997), but they are very subtle and difficult for us to see when reexamining

herbarium material of these species. Mayfield (1997) recognized two groups in subg. *Poinsettia*, the *Euphorbia dentata* alliance and “subgenus *Poinsettia* sens.str.” Our combined molecular tree (Fig. 3B) indicates that the *E. dentata* alliance may be monophyletic, but it is nested within the rest of the subsection.

In addition to the species listed above, there are four other species described but not validly published in Mayfield’s (1997) thesis. In addition, Mayfield (1997) proposed a new name and status for another species he recognized in subg. *Poinsettia*. This name is validated below.

Euphorbia tubadenia Mayfield ex Y. Yang, **nom. & stat. nov.**

≡ *Euphorbia dentata* var. *lasiocarpa* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 72. 1862 – Type: Mexico. Nuevo León: Tanquesillos, Jul–Oct 1842, *W.F. von Karwinski s.n.* (holotype: LE). — Since the epithet *lasiocarpa* is occupied in *Euphorbia* (*E. lasiocarpa* Klotzsch), a new name is required for this taxon when elevated to species.

15. *Euphorbia* sect. *Alectorroctonum* (Schltdl.) Baill., Étude Euphorb.: 284. 1858 ≡ *Alectorroctonum* Schltdl. in Linnaea 19: 252. 1847 – Lectotype: *A. scotatum* (Schltdl.) Schltdl. (≡ *E. scotatum* Schltdl.), designated by Wheeler in Amer. Midland Naturalist 30: 459. 1943.

= *Agaloma* Raf., Fl. Tellur. 4: 116. 1838 ≡ *Euphorbia* subg. *Agaloma* (Raf.) House in Bull. New York State Mus. Nat. Hist. 254: 471. 1924 – Lectotype: *E. corollata* L., designated by Rafinesque in Autik. Bot. 95. 1840.

= *Tithymalopsis* Klotzsch & Garcke in Monatsber. Königl. Preuss. Akad. Wiss. Berlin 1859: 249. 1859 ≡ *Euphorbia* sect. *Tithymalopsis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 9, 66. 1862 – Lectotype: *E. corollata* L., designated by Small in Britton & Brown, Ill. Fl. N.U.S., ed. 2., 2: 469. 1913.

= *Zalitea* Raf., New Fl. 4: 98. 1838 – Type: *Z. linearis* Raf. (= *E. hexagona* Nutt.).

= *Euphorbia* sect. *Zygothylidium* Boiss. in Candolle, Prodr. 15(2): 9, 52. 1862 ≡ *Zygothylidium* (Boiss.) Small in Fl. S.E. U.S.: 714, 1334. 1903 – Lectotype: *Z. hexagonum* (≡ *E. hexagona* Nutt.), designated by Small in Britton & Brown, Ill. Fl. N.U.S., ed. 2., 2: 468. 1913.

Annual or perennial herbs, shrubs, rarely succulent or small trees. Stems erect to decumbent, rarely prostrate. Leaves and branches opposite and/or alternate before the termination of apical growth, which usually produces a 2–8-rayed pseudo-umbel and usually equal number of leaves (sometimes there is no apical termination and the main shoots continue elongating), and then switching to dichotomous branching, with each fork subtended by a pair of dichasial bracts. Leaves elliptic, ovate, obovate to linear, margin entire, rarely crenulate; stipules mostly minute and glanduliform, rarely subulate-filiform. Cyathia solitary or in cymes, terminal or axillary; both dichasial and subcyathial bracts leaf-like, sometimes greatly reduced in size, or white and showy; glands 5 per cyathium (rarely 2, 3, 4 or 6), flat or shallowly concave, appendages petaloid; styles free at the base, tip bifid or rarely entire; ovary and capsule

glabrous or pubescent, capsule exerted at maturity; 3-lobed. Seeds ovoid, subglobose, or oblong, more or less 4-angled to rounded; surface smooth or with wart-like protrusions, sometimes distinctively shallowly to deeply pitted, ecarunculate or rarely carunculate.

Distribution and habitat. – Widespread in the New World from Canada to Argentina, with a center of diversity in Mexico and Central America; tropical and subtropical forests, desert scrub, and disturbed areas, sea level to 3000 m.

Included species (115). – *E. aaron-rossii* A.H. Holmgren & N.H. Holmgren, *E. acerensis* Boiss., *E. adiantoides* Lam., *E. alata* Hook., *E. antisiphilitica* Zucc., *E. arenaria* Kunth, *E. ariensis* Kunth, *E. armourii* Millsp., *E. artegae* W.R. Buck & Huft, *E. barnesii* (Millsp.) Oudejans, *E. bicolor* Engelm. & A. Gray, *E. bilobata* Engelm., *E. calcicola* Fernald, *E. californica* Benth., *E. caperata* McVaugh, *E. cassythoides* Boiss., *E. ceroderma* I.M. Johnst., *E. chenopodiifolia* Boiss., *E. colletioides* Benth., *E. corollata* L., *E. cotinifolia* L., *E. curtisii* Engelm., *E. cymosa* Poir., *E. defoliata* Urb., *E. delicatula* Boiss., *E. dioscoreoides* Boiss., *E. discoidalis* Chapm., *E. dugandiana* Croizat, *E. dwyeri* D.G. Burch, *E. eglandulosa* V.W. Steinm., *E. ellipsifolia* Gilli, *E. ephedromorpha* Bartlett ex B.L. Rob. & Bartlett, *E. equisetiformis* A. Stewart, *E. estevesii* N. Zimm. & P.J. Braun, *E. exserta* (Small) Coker, *E. francoana* Boiss., *E. fraseri* Boiss., *E. fulgens* Karw. ex Klotzsch, *E. gentryi* V.W. Steinm. & T.F. Daniel, *E. gradyi* V.W. Steinm. & Ram.-Roa, *E. graminea* Jacq., *E. guadalajarana* S. Watson, *E. guatemalensis* Standl. & Steyer., *E. guiengola* W.R. Buck & Huft, *E. gumaroi* J. Meyrán, *E. haematantha* Boiss., *E. henricksonii* M.C. Johnst., *E. hexagona* Nutt. ex Spreng., *E. hexagonoides* S. Watson, *E. hindsiana* Benth., *E. hintonii* L.C. Wheeler, *E. humayensis* Brandege, *E. innocua* L.C. Wheeler, *E. insulana* Vell., *E. ipeacacuanhae* L., *E. ixtlana* Huft, *E. jablonskii* V.W. Steinm., *E. lagunensis* Huft, *E. lancifolia* Schldtl., *E. leucocephala* Lhotsy, *E. lottiae* V.W. Steinm., *E. luciismithii* B.L. Rob. & Greenm., *E. macropodoides* B.L. Rob. & Greenm., *E. macropus* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. macvaughii* Carvajal & Lomeli, *E. marginata* Pursh, *E. mercurialina* Michx., *E. mexiae* Standl., *E. misella* S. Watson, *E. misera* Benth., *E. monantha* C. Wright ex Boiss., *E. montereyana* Millsp., *E. multisetata* Benth., *E. muscicola* Fernald, *E. nayarensis* V.W. Steinm., *E. nephradenia* Barneby, *E. oaxacana* B.L. Rob. & Greenm., *E. ocymoidea* L., *E. oerstediana* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. oppositifolia* McVaugh, *E. petiolaris* Sims, *E. poeppigii* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. polyphylla* Engelm. ex Holz., *E. pubentissima* Michx., *E. rossiana* Pax, *E. rzadowskii* McVaugh, *E. saccharata* Boiss., *E. scandens* Kunth, *E. schlechtendalii* Boiss., *E. sciadophila* Boiss., *E. scotatum* Schldtl., *E. segoviensis* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. sinaloensis* Brandege, *E. sonora* Rose, *E. soobyi* McVaugh, *E. sphaerorhiza* Benth., *E. spruceana* Boiss., *E. strictior* Holz., *E. subpeltata* S. Watson, *E. subreniformis* S. Watson, *E. subtrifoliata* Rusby, *E. succedanea* L.C. Wheeler, *E. surinamensis* Lanj., *E. tresmariae* (Millsp.) Standl., *E. tricolor* Greenm., *E. umbrosa* Bertero ex Spreng., *E. verapazensis* Standl. & Steyer., *E. violacea* Greenm., *E. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *E. whitei* L.C. Wheeler,

E. wrightii Torr. & A. Gray, *E. xalapensis* Kunth, *E. xanti* Engelm. ex Boiss., *E. xbacensis* Millsp., *E. zierioides* Boiss.

Discussion. – Section *Alectoroctonum* is characterized by tiny, mostly glanduliform stipules, petaloid gland appendages, and usually entire leaves. Schlechtendal (1847) coined the genus name *Alectoroctonum* after the Spanish common name for “rooster killer”, presumably referring to the toxicity of the species he assigned to the group.

Due to limited resolution in our analysis, incongruence among markers, and frequent convergence in morphology, additional markers will be required to better resolve relationships within sect. *Alectoroctonum*. Therefore here we are not proposing any formal subsections, but instead some of the distinct subclades were considered in the discussions.

■ ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank V.W. Steinmann, Y. Ramírez-Amezcu, R. Becker, A. Moller, S. Ghazanfar, and the Missouri Botanical Garden for facilitating field work; T.R. van Devender, A.L. Reina-G., V.W. Steinmann, P. Carrillo-Reyes, J.W. Horn, B.W. van Ee, K.J. Wurdack, and B.L. Dorsey for providing plant samples; and curators of the following herbaria who allowed us to sample and examine their specimens: COLO, MA, MICH, MO, and UPS. We thank S. Pereira, H. Draheim, B.S. Wagner, D.J. Landau, and B. Oyserman for help with lab work; V.W. Steinmann, J.A. Peirson, J.W. Horn, and B.L. Dorsey for valuable discussion and help revising the manuscript; and P.V. Bruyns and an anonymous reviewer for help improving the manuscript. Funding was provided by the National Science Foundation through a Planetary Biodiversity Inventory award (DEB-0616533) to PEB.

■ LITERATURE CITED

- Binoj Kumar, M.S. & Balakrishnan, N.P. 2010. *The genus Euphorbia L. (Euphorbiaceae) in India: A taxonomic revision*. New Connaught Place, Dehra Dun, India: Bishen Singh Mahendra Pal Singh.
- Boissier, E. 1862. Euphorbiaceae. Pp. 3–188 in: Candolle, A.P. de (ed.), *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. Paris: Victor Masson & Fils.
- Brown, J.M., Hedtk, S.M., Lemmon, A.R. & Lemmon, E.M. 2010. When trees grow too long: Investigating the causes of highly inaccurate Bayesian branch-length estimates. *Syst. Biol.* 59: 145–161.
- Brown, N.E. 1915. *Euphorbia*. Pp. 222–375 in: Thistelton-Dyer, W.T. (ed.), *Flora Capensis*, vol. 5, 2. London: L. Reeve.
- Bruyns, P.V. In press. Nomenclature and typification of Southern African species of *Euphorbia*. *Bothalia*.
- Bruyns, P.V., Klak, C. & Hanáček, P. 2011. Age and diversity in Old World succulent species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Taxon* 60: 1717–1733.
- Bruyns, P.V., Mapaya, R.J. & Hedderson, T. 2006. A new subgeneric classification for *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in southern Africa based on ITS and *psbA-trnH* sequence data. *Taxon* 55: 397–420.
- Carneiro-Torres, D.S., Cordeiro, I., Giulietti, A.M. & Riina, R. 2012. *Euphorbia flaviana*, a new species from the inselbergs of Bahia (Brazil) and lectotypification of *E. crossadenia*. *Syst. Bot.* 37: 688–693.
- Carter, S. 1992. New herbaceous and woody species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae) from Somalia. *Nord. J. Bot.* 12: 681–688.

- Carter, S. & Leach, L.C.** 2001. *Euphorbia*. Pp. 339–433 in: Pope, G.V. (ed.), *Flora Zambesiaca*. Kew: Royal Botanic Gardens, Kew.
- Carter, S. & Radcliffe-Smith, A.** 1988. Euphorbiaceae, Tribe Euphorbieae. Pp. 409–564 in: Polhill, R.M. (ed.), *Flora of tropical East Africa: Euphorbiaceae*, pt. 2. Kew: Royal Botanical Garden, Kew.
- Creemers, G.** 1984. Les euphorbes coralliformes de Madagascar. *Bull. Jard. Bot. Natl. Belg.* 54: 23–64.
- Croizat, L.** 1940. New and critical Euphorbiaceae from eastern tropical Asia. *J. Arnold Arbor.* 21: 505–506.
- Dressler, R.L.** 1961. A synopsis of *Poinsettia* (Euphorbiaceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 48: 329–341.
- Edgar, R.C.**, 2004. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucl. Acids Res.* 32: 1792–1797.
- Haevermans, T.** 2003. *Le genre Euphorbia L. à Madagascar: Phylogénie moléculaire et systématique*. Ph.D. dissertation, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France.
- Hargreaves, B.J.** 1992. The other spurges of Lesotho (at least allegedly). *Euphorbia J.* 8: 126–132.
- Hassall, D.C.** 1977. The genus *Euphorbia* in Australia. *Austral. J. Bot.* 25: 429–453.
- Hayden, W.J.** 1988. Ontogeny of the cotyledonary region of *Chamaesyce maculata* (Euphorbiaceae). *Amer. J. Bot.* 75: 1701–1713.
- Holmgren, A.H. & Holmgren, N.H.** 1988. *Euphorbia aaron-rossii* (Euphorbiaceae), a new species from Marble and Grand Canyons of the Colorado River, Arizona. *Brittonia* 40: 357–362.
- Horn, J.W., Van Ee, B.W., Morawetz, J.J., Riina, R., Steinmann, V.W., Berry, P.E. & Wurdack, K.J.** 2012a. Phylogenetics and the evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). *Molec. Phylogen. Evol.* 63: 305–326.
- Horn, J.W., Xi, Z., Riina, R., Berry, P.E., Davis, C. & Wurdack, K.J.** 2012b. Evolutionary bursts in the *Euphorbia* (Euphorbiaceae) Tree of Life are linked with photosynthetic pathway. Abstract 934, Botany 2012, Columbus, Ohio, <http://www.botanyconference.org/engine/search/index.php?func=detail&aid=934>.
- Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F.** 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754–755.
- Huft, M.J.** 1979. *A monograph of Euphorbia section Tithymalopsis*. Ph.D. dissertation, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, U.S.A.
- Huft, M.J.** 1984. A review of *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in Baja California. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 71: 1021–1027.
- Kolaczowski, B. & Thornton, J.W.** 2009. Long-branch attraction bias and inconsistency in Bayesian phylogenetics. *PLoS ONE* 4: e7891, doi:10.1371/journal.pone.0007891.
- Koutnik, D.L.** 1984. *Chamaesyce* (Euphorbiaceae) – a newly recognized genus in southern Africa. *S. African J. Bot.* 3: 262–264.
- Koutnik, D.L.** 1987. A taxonomic revision of the Hawaiian species of the genus *Chamaesyce* (Euphorbiaceae). *Allertonia* 4: 331–388.
- Maddison, D.R. & Maddison, W.P.** 2005. MacClade 4.08: An analysis of phylogeny and character evolution. Sunderland, Massachusetts: Sinauer.
- Marshall, D.C.** 2010. Cryptic failure of partitioned Bayesian phylogenetic analyses: Lost in the land of long trees. *Syst. Biol.* 59: 108–117.
- Mayfield, M.H.** 1997. *A systematic treatment of Euphorbia subgenus Poinsettia (Euphorbiaceae)*. Ph.D. dissertation, the University of Texas at Austin, Austin, Texas, U.S.A.
- Meyrán García, J.** 2000. *Euphorbia gumaroi* Meyrán, una nueva especie del estado de Hidalgo, México. *Cact. Suc. Mex.* 45: 68–71.
- Molero, J. & Rovira, A.M.** 1992. *Euphorbia* L. subsect. *Esula* (Boiss. in DC.) Pax in the Iberian Peninsula: Leaf surface, chromosome numbers and taxonomic treatment. *Collect. Bot. (Barcelona)* 21: 121–181.
- Morawetz, J.J., Wagner, B., Riina, R. & Berry, P.E.** 2010. *Euphorbia* seed atlas, part 2. *Euphorbia World* 6(1): 25.
- Nylander, J.A.A.** 2004. MrModeltest, version 2.3 for Mac. Program distributed by the author. <http://www.abc.se/~nylander/> (accessed Jan 2010).
- Olmstead, R.G. & Sweere, J.A.** 1994. Combining data in phylogenetic systematics – an empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae. *Syst. Biol.* 43: 467–481.
- Pahlevani, A.H. & Akhani, H.** 2011. Seed morphology of Iranian annual species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 167: 212–234.
- Park, K.R. & Jansen, R.K.** 2007. A phylogeny of Euphorbieae subtribe Euphorbiinae (Euphorbiaceae) based on molecular data. *J. Pl. Biol.* 50: 644–649.
- Pax, F.** 1921. Euphorbiaceae. Pp. 1–169 in: Engler, A. (ed.), *Vegetation der Erde*, vol. 9, *Pflanzenwelt Afrikas*, vol. 3, pt. 2. Leipzig: Engelmann.
- Prenner, G. & Rudall, P.J.** 2007. Comparative ontogeny of the cyathium in *Euphorbia* (Euphorbiaceae) and its allies: Exploring the organ flower inflorescence boundary. *Amer. J. Bot.* 94: 1612–1629.
- Prenner, G., Cacho, N.I., Baum, D. & Rudall, P.J.** 2011. Is *LEAFY* a useful marker gene for the flower-inflorescence boundary in the *Euphorbia* cyathium? *J. Exp. Bot.* 62: 345–350.
- Rambaut, A. & Drummond, A.** 2007. Tracer, version 1.4. Computer program and documentation distributed by the author. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer> (accessed 14 Jul 2010).
- Rauh, W. & Mangelsdorff, R.D.** 1999. *Euphorbia bemarahaensis* Rauh & Mangelsdorff, une nouvelle espèce du groupe *Euphorbia bosseri* Leandri et *Euphorbia platyclada* Rauh. *Succulentas* 21(4): 3–12.
- Riina, R. & Berry, P.E. (coordinators).** 2012 (updated continuously). *Euphorbia* planetary biodiversity inventory database. <http://app.tolkin.org/projects/72/taxa> (accessed 1 June 2012).
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P.** 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- Sage, T.L., Sage, R.F., Vogan, P.J., Rahman, B., Johnson, D.C., Oakley, J.C. & Heckel, M.A.** 2011. The occurrence of C₂ photosynthesis in *Euphorbia* subgenus *Chamaesyce* (Euphorbiaceae). *J. Exp. Bot.* 62: 3183–3195.
- Schill, R.** 1971. Cytotaxonomische Untersuchungen an sukkulenten Vertretern der Gattung *Euphorbia* L. aus Madagaskar. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 84: 71–78.
- Schlechtendal, D.F.L. von** 1847. *Plantae Leiboldianae*. Dicotyleae. *Linnaea* 19: 234–320.
- Shaw, J., Lickey, E.B., Schilling, E.E. & Small, R.L.** 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III. *Amer. J. Bot.* 94: 275–288.
- Simmons, M.P.** 2004. Independence of alignment and tree search. *Molec. Phylogen. Evol.* 31: 874–879.
- Simmons, M.P. & Hayden, W.J.** 1997. Revision of the cerrado hemi-cryptophytic *Chamaesyce* of Boissier's "Pleiadeniae" (Euphorbiaceae). *Brittonia* 49: 155–180.
- Stamatakis, A.**, 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22: 2688–2690.
- Steinmann, V.W. & Porter, J.M.** 2002. Phylogenetic relationships in Euphorbieae (Euphorbiaceae) based on ITS and *ndhF* sequence data. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 89: 453–490.
- Swofford, D.L.** 2003. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4. Sunderland, Massachusetts: Sinauer.
- Thulin, M. & Al-Gifri, A.N.** 1995. *Euphorbia applanata* sp. nov. (Euphorbiaceae) from Yemen, with a note on *E. quitensis*. *Nord. J. Bot.* 15: 193–195.
- Ward, D.B.** 2001. New combinations in the Florida flora. *Novon* 11: 360–365.

Webster, G.L. 1967. The genera of Euphorbiaceae in the southeastern United States. *J. Arnold Arbor.* 48: 303–430.

Webster, G.L., Brown, W.V. & Smith, B.N. 1975. Systematics of photosynthetic carbon fixation pathways in *Euphorbia*. *Taxon* 24: 27–33.

Wheeler, L.C. 1941. *Euphorbia* subgenus *Chamaesyce* in Canada and the United States exclusive of Southern Florida. *Rhodora* 43: 97–154, 168–205, 223–286, pls. 654–668.

Wheeler, L.C. 1943. The genera of the living Euphorbiaceae. *Amer. Midland Naturalist* 30: 456–503.

Yang, Y. & Berry, P.E. 2011. Phylogenetics of the Chamaesyce clade (*Euphorbia*, Euphorbiaceae): Reticulate evolution and long-distance dispersal in a prominent C₄ lineage. *Amer. J. Bot.* 98: 1486–1503.

Zimmermann, N.F.A., Ritz, C.M. & Hellwig, F.H. 2010. Further support for the phylogenetic relationships within *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) from nrITS and *trnL-trnF* IGS sequence data. *Pl. Syst. Evol.* 286: 39–58.

Appendix. Specimens used in this study.

Taxon, collector, and collection number (herbarium acronym), collection locality, and GenBank accession numbers for ITS and *ndhF* sequences, respectively. Sequences without collection information were downloaded from GenBank.

Euphorbia aaron-rossii A.H. Holmgren & N.H. Holmgren, AF537396, –; *Euphorbia acanthothamnus* Heldr. & Sart. ex Boiss., *Riina 1563* (MICH), Greece: Crete, JQ750879, JQ750756; *Euphorbia acerensis* Boiss., *Van Ee 648* (MICH, SI, US), Argentina: Córdoba, JQ750872, JQ750757; *Euphorbia acuta* Engelm., AF537450, AF538176; *Euphorbia adiantoides* Lam., AF537395, –; *Euphorbia aequoris* N.E. Br. 1, *Becker 1167* (MICH, PRE, UNIN), South Africa: Western Cape, JQ750873, JQ750758; *Euphorbia aequoris* N.E. Br. 2, *Becker 1277* (MICH, PRE, UNIN), South Africa: Northern Cape, JQ750874, JQ750759; *Euphorbia agowensis* Hochst. ex Boiss., AF537419, –; *Euphorbia alata* Hook., *Campbell s.n.* (FTG), U.S.A.: cultivated at Fairchild Tropical Botanical Garden, #2009-0138, originally from Jamaica: Cockpit country, JQ750875, JQ750760; *Euphorbia albipollinifera* L.C. Leach, *Marx 209* (from the field, MA) and *Riina 1611* (from living collection, MICH), Netherlands: private living collection of R. van Veldhuisen, originally from South Africa: Eastern Cape, JQ750870, JQ750761; *Euphorbia albomarginata* Torr. & A. Gray, *Reina-G. 2006-389* (MICH), Mexico: Sonora, HQ645221, JQ750762; *Euphorbia angusta* Engelm., *Yang 41* (MICH), U.S.A.: Texas, HQ645222, JQ750763; *Euphorbia antisiphilitica* Zucc., *Yang 8* (MICH), U.S.A.: Texas, JQ750876, JQ750764; *Euphorbia apparicana* Rizzini, *Caruzo 138* (HUEFS), Brazil: Bahia, JQ750877, JQ750765; *Euphorbia arceuthobioides* Boiss., AM040758, –; *Euphorbia ariensis* Kunth, AF537409, –; *Euphorbia arteageae* W.R. Buck & Huft, *Steinmann 2354* (MICH), Mexico, JQ750878, JQ750766; *Euphorbia barbicollis* P.R.O. Bally, *Horn s.n.* (Arid Lands Nursery), U.S.A.: Cultivated at Arid Lands Nursery, Tucson, Arizona, originally from Somalia., JQ750881, JQ750767; *Euphorbia beharensis* Leandri, *Yang 188* (MICH), U.S.A.: Cultivated at Fairchild Tropical Botanical Garden, #2006-1173*A, originally from Madagascar, JQ750890, JQ750768; *Euphorbia bemarkaensis* Rauh & R. Mangelsdorff, AJ508984, –; *Euphorbia bicolor* Engelm. & A. Gray, AF537386, –; *Euphorbia bifurcata* Engelm., AF537434, AF538173; *Euphorbia bilobata* Engelm., *Van Devender 2007-1036* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750882, JQ750769; *Euphorbia brachiata* (E. Mey ex Klotzsch & Garcke) Boiss., *Morawetz. 280* (MICH), South Africa: Western Cape, JQ750883, JQ750770; *Euphorbia breviaristata* Pax, *Morawetz 375* (EA, MICH, MO), Kenya, JQ750885, JQ750771; *Euphorbia burmannii* (Klotzsch & Garcke) E. Mey. ex Boiss. 1, *Morawetz 266* (MICH, NBG), South Africa: Eastern Cape, JQ750884, JQ750772; *Euphorbia burmannii* (Klotzsch & Garcke) E. Mey. ex Boiss. 2, *Becker 873* (PRE, UNIN), South Africa: Western Cape, JQ750933, JQ750823; *Euphorbia calcicola* Fernald, AF537385, –; *Euphorbia californica* Benth., *Sanchez 06-050* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750892, JQ750773; *Euphorbia caperata* McVaugh, *Steinmann 5891* (IEB), Mexico, JQ750893, JQ750774; *Euphorbia capitellata* Engelm., *Reina-G. 2006-539* (MICH), Mexico: Sonora, HQ645237, JQ750775; *Euphorbia cassythoides* Boiss., AF537387, –; *Euphorbia caterviflora* N.E. Br., *Becker 1126* (MICH, PRE, UNIN), South Africa: Northern Cape, JQ750894, JQ750776; *Euphorbia caelestroides* Boiss., *Berry 7864* (MICH), U.S.A.: cultivated at the Huntington Botanical Gardens, California, originally from U.S.A.: Hawaii, JQ750895, JQ750777; *Euphorbia ceroderma* I.M. Johnston, AF537389, AF538153; *Euphorbia cheirolepis* Fisch. & C.A. Mey. ex Karelín, AF537424, –; *Euphorbia chersina* N.E. Br., *Becker 903* (PRE, UNIN), South Africa: Northern Cape, JQ750896, JQ750778; *Euphorbia chersonesa* Huft, AF537436, AF538174; *Euphorbia colletioides* Benth., *Reina-G. 2006-1314* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750897, JQ750779; *Euphorbia colorata* Engelm., *Van Devender 2006-1031* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750898, JQ750780; *Euphorbia cornastra* (Dressler) Radcl.-Sm., *Berry 7840* (MICH), U.S.A.: cultivated at the Ecke Ranch, Encinitas, California, JQ750899, JQ750781; *Euphorbia corollata* L., *Berry 7764* (MICH), U.S.A.: Indiana, JQ750900, JQ750782; *Euphorbia cotinifolia* L., *Riina 1587* (VEN), Venezuela: Edo Vargas, JQ750901, JQ750783; *Euphorbia crossandena* Pax & K. Hoffm., *Giulietti 2417* (HUEFS), Brazil: Bahia, JQ750902, –; *Euphorbia crotonoides* subsp. *crotonoides* Boiss., *Morawetz 456* (DSM, K, MICH, MO, NHT), Tanzania: Rukwa Region, JQ750871, JQ750784; *Euphorbia cuphosperma* (Engelm.) Boiss., *Yang 44* (MICH, IEB), Mexico: Guanajuato, JQ750903, JQ750785; *Euphorbia cyathophora* Murray, *Yang 129* (MICH), U.S.A.: Florida, JQ750904, JQ750786; *Euphorbia cymosa* Poir., *Van Ee 761* (MICH), Jamaica: St. Andrew, JQ750905, JQ750787; *Euphorbia delicatula* Boiss., AF537393, AF538152; *Euphorbia denisii* Oudejans, *Dorsey 184* (MICH, TAN, MO), Madagascar: Toliara, –, JQ750788; *Euphorbia dentata* Michx., *Van Ee 627* (MICH, SI, US), Argentina: Córdoba, JQ750906, JQ750789; *Euphorbia dioscoreoides* subsp. *attenuata* V.W. Steinm., *Reina-G. 2006-562* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750907, JQ750790; *Euphorbia eglanulosa* V.W. Steinm., AF537394, –; *Euphorbia einensis* G. Will., *Becker 911* (PRE, UNIN), South Africa: Northern Cape, JQ750908, JQ750791; *Euphorbia ephedroides* E. Mey. ex Boiss., *Becker 908* (PRE, UNIN), South Africa: Northern Cape, JQ750909, JQ750792; *Euphorbia equisetiformis* A. Stewart, AF537388, –; *Euphorbia eriantha* Benth., AF537440, AF538167; *Euphorbia espinosa* Pax, AF537416, AF538190; *Euphorbia exilis* L.C. Leach 1, AM040767, –; *Euphorbia exilis* L.C. Leach 2, *Becker 894* (PRE, UNIN), South Africa: Northern Cape, JQ750913, JQ750798; *Euphorbia exstipulata* Engelm., *Reina-G. 2006-674* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750910, JQ750793; *Euphorbia flaviana* Carneiro-Torres & Cordeiro, AF537457, –; *Euphorbia florida* Engelm., *Reina-G. 2006-476* (MICH), Mexico: Sonora, HQ645268, JQ750794; *Euphorbia francoana* Boiss., *Steinmann 2083* (MICH), Mexico: Michoacán, JQ750911, JQ750795; *Euphorbia fulgens* Karw. ex Klotzsch, AF537404, AF538154; *Euphorbia gentilis* N.E. Br., *Becker 1188* (MICH, PRE, UNIN), South Africa: Western Cape, JQ750912, JQ750796; *Euphorbia gentryi* V.W. Steinm. & T.F. Daniel, AF537406, –; *Euphorbia giessii* L.C. Leach, *Becker 1366* (WIND, MICH, PRE, UNIN), Namibia: Erongo, –, JQ750797; *Euphorbia glanduligera* Pax, AF537426, AF538178; *Euphorbia goetzei* Pax, AF537413, AF538185; *Euphorbia gayouensis* Boiss., *Caruzo 139* (HUEFS), Brazil: Bahia, JQ750914, JQ750799; *Euphorbia gradyi* V.W. Steinm. & Ram.-Roa, AF537407, AF538151; *Euphorbia graminea* Jacq. 1, *Berry 7843* (MICH), U.S.A.: cultivated at the Ecke Ranch, Encinitas, California, JQ750915, JQ750800; *Euphorbia graminea* Jacq. 2, *Christenhusz 3297* (MICH), Jamaica, JQ750945, JQ750801; *Euphorbia guadalajara* S. Watson, *Carrillo-Reyes 5902* (IEB), Mexico: Jalisco, JQ750916, JQ750802; *Euphorbia guatemalensis* Standl. & Steyerl., AF537408, –; *Euphorbia guinezi* Boiss., *Hobson 2141* (PRE), Swaziland, JQ750917, JQ750803; *Euphorbia guerichiana* Pax, *Becker 929* (PRE, UNIN), South Africa: Northern Cape, JQ750918, JQ750804; *Euphorbia guingoi* W.R. Buck & Huft, *Berry 7753* (MICH), U.S.A.: cultivated at the green house of UC-Davis, California, #B76.047, JQ750919, JQ750805; *Euphorbia gumaroi* J. Meyrán, *Steinmann 5813* (MICH, IEB), Mexico: Hidalgo, JQ750920, JQ750806; *Euphorbia gymnoclada* Boiss., *Caruzo 130* (HUEFS), Brazil: Bahia, JQ750921, JQ750807; *Euphorbia gymnonota* Boiss., *Yang 185* (MICH), U.S.A.: Cultivated, JQ750886, JQ750808; *Euphorbia hainanensis* Croizat, *Gilbert 501* (MO, K), China: Hainan, JQ750922, –; *Euphorbia helioscopia* L., *Riina 1607* (MICH), Spain: Castilla y León, JQ750880, JQ750809; *Euphorbia herrei* A.C. White, R.A. Dyer & B. Sloane, *Becker 937* (PRE, UNIN), South Africa: Northern Cape, JQ750923, JQ750810; *Euphorbia heterophylla* L., *Riina 1596* (VEN), Venezuela: Barinas, JQ750924, JQ750811; *Euphorbia hexagona* Nutt. ex Spreng., *Clark 1793* (COLO), U.S.A.: Colorado, JQ750925, JQ750812; *Euphorbia hindsiana* Benth., *Steinmann 6438* (IEB, MICH), Mexico: Baja California Sur, JQ750926, JQ750813; *Euphorbia hinkleyorum* I.M. Johnston., *Carrillo-Reyes 5963* (CORD), Argentina: Jujuy, JQ750887, JQ750814; *Euphorbia hirta* L., *Reina-G. 2006-470* (MICH), Mexico: Sonora, HQ645278, JQ750815; *Euphorbia hormorrhiza* Radcl.-Sm., AF537431, AF538165; *Euphorbia humayensis* Brandege, *Steinmann 1153* (MICH), Mexico: Sinaloa, JQ750927, JQ750816; *Euphorbia humifusa* Willd., *Schuhwerk 06/511* (MICH), Germany: Oberpfalz, JQ750928, JQ750817;

Appendix. Continued.

Euphorbia hyssopifolia L., *Van Devender 2006-463* (MICH), Mexico: Sonora, HQ645283, JQ750818; *Euphorbia innocua* L.C. Wheeler, AF537380, AF538161; *Euphorbia insulana* Vell., *Riina 1586* (VEN), Venezuela: Dto. Federal, JQ750930, JQ750819; *Euphorbia ipeacacuanhae* L., AF537397, –; *Euphorbia ixtlana* Huft, *Carrillo-Reyes 5555* (IEB, MICH), Mexico: Oaxaca, JQ750931, JQ750820; *Euphorbia jaliscensis* B.L. Rob. & Greenm., AF537442, AF538166; *Euphorbia juttiae* Dinter 1, AF537418, AF538188; *Euphorbia juttiae* Dinter 2, *Becker 1402* (WIND, MICH, PRE, UNIN), Namibia: Karas, JQ750932, JQ750821; *Euphorbia kabridarensis* Thulin, *Thulin 11585* (UPS), Ethiopia: Somali National Regional State, –, JQ750822; *Euphorbia lacera* Boiss., AF537441, –; *Euphorbia lagunensis* Huft, AF537379, –; *Euphorbia leistneri* R.H. Archer, *Morawetz 303* (MICH), South Africa, JQ750934, JQ750824; *Euphorbia leucocephala* Lotsy, *Yang 125* (MICH), U.S.A.: Florida, JQ750935, JQ750825; *Euphorbia lumbricalis* L.C. Leach, AM040779, –; *Euphorbia lycioides* Boiss., *Farias Castro 2030* (EAC), Brazil: Piauí, JQ750936, JQ750826; *Euphorbia macropodoides* B.L. Rob. & Greenm., *Anderson 4840* (MICH), Mexico: Oaxaca, JQ750937, JQ750827; *Euphorbia macropus* (Klotzsch & Garcke) Boiss., *Van Devender 2006-1033* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750938, JQ750828; *Euphorbia maculata* L., *Schuhwerk 6/598* (M), JQ750939, JQ750829; *Euphorbia macvaughii* Carvajal & Lomeli, AF537382, –; *Euphorbia marginata* Pursh, AJ534787, AJ534788, EU022037; *Euphorbia mexiae* Standl., *Carrillo-Reyes 5800* (MICH), Mexico: Jalisco, JQ750942, JQ750831; *Euphorbia misella* S. Watson, AF537384, AF538160; *Euphorbia misera* Benth., AF537383, EU022036; *Euphorbia mundii* N.E. Br., *Becker 1147* (MICH, PRE, UNIN), South Africa: Western Cape, JQ750943, JQ750832; *Euphorbia oaxacana* B.L. Rob. & Greenm., AF537373, –; *Euphorbia ocymoides* L., *Van Devender 2007-1346* (MICH), Mexico, JQ750944, JQ750833; *Euphorbia oerstediana* Klotzsch & Garcke Boiss., –, AF538159; *Euphorbia parvicaruncula* D.C. Hassall, AJ534809+AJ534810, –; *Euphorbia pediculifera* Engelm., *Reina-G. 2006-483* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750946, JQ750834; *Euphorbia pentadactyla* Griseb., AF537428, –; *Euphorbia pervilleana* Baill., *Dorsey 188* (MICH, TAN, MO), Madagascar: Toliara, JQ750888, JQ750835; *Euphorbia petiolata* Banks & Sol., AF537422, AF538180; *Euphorbia phosphorea* Mart., *Caruzo 145* (HUEFS), Brazil: Bahia, JQ750889, JQ750836; *Euphorbia phylloclada* Boiss., AF537427, AF538179; *Euphorbia pinetorum* (Small) G.L. Webster, *Yang 168* (MICH), U.S.A.: Florida, JQ750947, JQ750837; *Euphorbia pirottae* N. Terrac., AF537417, AF538186; *Euphorbia plagiantha* Drake, *Dorsey 164* (MICH, TAN, MO), Madagascar: Toliara, –, JQ750838; *Euphorbia planiticola* D.C. Hassall, *Gillespie 7324* (MICH), Australia: New South Wales, –, JQ750839; *Euphorbia platyclada* Rauh, AF537421, AF538187; *Euphorbia poeppigii* (Klotzsch & Garcke) Boiss., AJ534793+AJ534794, –; *Euphorbia polyantha* Pax, –, EU022107; *Euphorbia polygonifolia* L., *Berry 7765* (MICH), Canada: Ontario, JQ750948, JQ750840; *Euphorbia polyphylla* Engelm. ex Holz., *Yang 0158* (MICH), U.S.A.: Florida, JQ750949, JQ750841; *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch, *Van Devender 2007-1177* (MICH), Mexico, JQ750950, JQ750842; *Euphorbia pumicicola* Huft, AF537437, AF538164; *Euphorbia quaitensis* S. Carter, –, EU022061; *Euphorbia radians* Benth., AF537438, AF538169; *Euphorbia rhombifolia* Boiss. 1, AF537414, AF538183; *Euphorbia rhombifolia* Boiss. 2, *Becker 864* (PRE, UNIN), South Africa: Western Cape, JQ750929, JQ750843; *Euphorbia rhombifolia* Boiss. 3, *Becker 1105* (MICH, PRE, UNIN), South Africa: Eastern Cape, JQ750951, JQ750844; *Euphorbia rossiana* Pax, AF537374, –; *Euphorbia royleana* Boiss., *Berry 7739* (MICH), U.S.A.: Cultivated, JQ750891, JQ750845; *Euphorbia rzędowskii* McVaugh, AF537399, –; *Euphorbia salota* Leandri, *Aubriot 28* (P, MICH), Madagascar: Androy, JQ750952, JQ750846; *Euphorbia sarcodes* Boiss., *Caruzo 141* (HUEFS), Brazil: Bahia, JQ750953, JQ750847; *Euphorbia scandens* Kunth, *Carrillo-Reyes 5146* (IEB, MICH), Mexico: Chiapas, JQ750954, JQ750848; *Euphorbia scatorhiza* S. Carter, AF537420, AF538181; *Euphorbia schlechtendalii* Boiss., *Steinmann 2172* (MICH, IEB), Mexico: Michoacán, JQ750955, JQ750849; *Euphorbia sciadophila* Boiss., *Van Ee 650* (MICH, SI, US), Argentina: Córdoba, JQ750956, JQ750850; *Euphorbia segovienensis* (Klotzsch & Garcke) Boiss., AF537400, –; *Euphorbia sessilifolia* Klotzsch ex Boiss., *Caruzo 133* (HUEFS), Brazil: Bahia, JQ750957, JQ750851; *Euphorbia setiloba* Engelm. ex Torr., *Reina-G. 2006-478* (MICH), Mexico: Sonora, HQ645345, JQ750852; *Euphorbia setosa* (Boiss.) Müll.Arg., *Cordeiro 3025* (SP), Brazil: Minas Gerais, HQ645346, JQ750853; *Euphorbia sinaloensis* Brandegees, AF537401, AF538156; *Euphorbia sonorae* Rose, *Reina-G. 2006-830* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750958, JQ750854; *Euphorbia sooyi* McVaugh, *Carrillo-Reyes 5895* (MICH), Mexico: Jalisco, JQ750959, JQ750855; *Euphorbia sp. nov. 1*, *Ramírez-Amezcuca 1428* (MICH, IEB), Mexico: Michoacán, JQ750962, JQ750856; *Euphorbia sp. nov. 2*, *Steinmann 6586* (IEB), Mexico: Michoacán, JQ750960, JQ750857; *Euphorbia sp. nov. 3*, *Van Devender 2006-1030* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750961, JQ750858; *Euphorbia sp. nov. 4*, *Linneo 1053* (MO), Bolivia: Santa Cruz, JQ750940, JQ750830; *Euphorbia sp. nov. 5*, *Steinmann 5833* (IEB), Mexico: Querétaro, JQ750970, JQ750869; *Euphorbia spartaria* N.E. Br., *Becker 1370* (WIND, MICH, PRE, UNIN), Namibia: Khomas, –, JQ750859; *Euphorbia sphaerorrhiza* Benth. 1, *Yang 110* (MICH, IEB), Mexico: Michoacán, JQ750963, JQ750860; *Euphorbia sphaerorrhiza* Benth. 2, *Breedlove 63154* (MICH), Mexico: Durango, JQ750941, JQ750861; *Euphorbia spinea* N.E. Br., *Becker 967* (PRE, UNIN), South Africa: Northern Cape, JQ750964, JQ750862; *Euphorbia stapelioides* Boiss., AM040790, –; *Euphorbia strigosa* Hook. & Arn., AF537439, AF538163; *Euphorbia subpeltata* S. Watson, *Ramírez-Amezcuca 1129* (IEB), Mexico, JQ750965, JQ750863; *Euphorbia subreniformis* S. Watson, *Van Devender 2006-1003* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750966, JQ750864; *Euphorbia succedanea* L.C. Wheeler, AF537403, AF538162; *Euphorbia suffulta* Bruyns, AM040794, –; *Euphorbia tannensis* subsp. *tannensis* Spreng., AF537425, AF538184; *Euphorbia tannensis* subsp. *eremophila* (A. Cunn. ex Hook.) D.C. Hassall, AF537423, –; *Euphorbia thymifolia* L., *Van Devender 2006-628* (MICH), Mexico: Sonora, JQ750967, JQ750865; *Euphorbia tresmariae* (Millsp.) Standl., *Steinmann 1089* (MICH, RSA), Mexico: Jalisco, JQ750968, JQ750866; *Euphorbia whitei* L.C. Wheeler, AF537391, –; *Euphorbia xalapensis* Kunth, *Steinmann 4221* (MICH, IEB), Mexico: Michoacán, –, JQ750867; *Euphorbia xanti* Engelm. ex Boiss., *Yang 0199* (IEB, MICH), Mexico: Baja California Sur, JQ750969, JQ750868; *Euphorbia zonosperma* Müll. Arg., AF537430, –.

Annexe I.3.

Chaos revisited: nomenclature and typification of the Malagasy endemic *Euphorbia* subgenus *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert

T. Haevermans, G. Rouhan, W. Hetterscheid, M. Tessier,

K. Belarbi, X. Aubriot, J.-N. Labat

Adansonia **31** (2009)

Chaos revisited: nomenclature and typification of the Malagasy endemic *Euphorbia* subgenus *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert

Thomas HAEVERMANS

Germinal ROUHAN

Muséum national d'Histoire naturelle, Département Systématique et Évolution,
UMR 7205 OSEB CNRS/MNHN, Herbarium Plantes Vasculaires,
case postale 39, 57 rue Cuvier, F-75231 Paris cedex 05 (France)
haever@mnhn.fr
rouhan@mnhn.fr

Wilbert HETTERSCHIED

Botanical Gardens, Wageningen University,
Generaal Foulkesweg 37, NL-6703 BL Wageningen (The Netherlands)
wilbert.hetterscheid@wur.nl

Marc TEISSIER

Jardin botanique "Les Cèdres", F-06230 Saint-Jean-Cap-Ferrat (France)
m.p.teissier@orange.fr

Karim BELARBI

Xavier AUBRIOT

Jean-Noël LABAT

Muséum national d'Histoire naturelle, Département Systématique et Evolution,
UMR 7205 OSEB CNRS/MNHN, Herbarium Plantes Vasculaires,
case postale 39, 57 rue Cuvier, F-75231 Paris cedex 05 (France)
aubriot@mnhn.fr
labat@mnhn.fr

Haevermans T., Rouhan G., Hetterscheid W., Teissier M., Belarbi K., Aubriot X. & Labat J.-N. 2009. — Chaos revisited: nomenclature and typification of the Malagasy endemic *Euphorbia* subgenus *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert. *Adansonia*, sér. 3, 31 (2): 279-299.

ABSTRACT

Malagasy relatives of the Crown-of-Thorns (*Euphorbia milii* Des Moul.) are well known worldwide for their ornamental value. Malagasy taxa account for almost 10% of the genus *Euphorbia* L., with 110 accepted names constituting subgenus *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert. The chaotic taxonomy combined with the poor state of preservation of most herbarium specimens makes the systematic study of this huge genus a quite difficult task. This paper offers a nomenclatural account of all the published names with a recapitulatory list citing all the accepted names in subgenus *Lacanthis* as a first step towards the revision of the group.

KEY WORDS

Madagascar,
spiny euphorbias,
Lacanthis (Raf.)
M.G.Gilbert,
nomenclature,
lectotypification.

RÉSUMÉ

Le chaos revisité: nomenclature et typification d'Euphorbia sous-genre Lacanthis (Raf.) M.G.Gilbert, endémique de Madagascar.

Les espèces malgaches apparentées à la plante connue sous le nom de Couronne d'épines (*Euphorbia milii* Des Moul.) sont surtout connues dans le monde entier pour leur valeur ornementale. Les taxons malgaches représentent presque 10 % du nombre total d'espèces du genre *Euphorbia* L., dont 110 noms acceptés constituent le sous-genre *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert. La taxonomie chaotique alliée au mauvais état de conservation de la majorité des échantillons d'herbier rendent l'étude systématique de ce genre énorme particulièrement ardue. Cet article propose une mise au point nomenclaturale de tous les noms publiés et inclut une liste récapitulative de tous les noms acceptés du sous-genre *Lacanthis* comme première étape vers la révision du groupe.

MOTS CLÉS

Madagascar,
euphorbes épineuses,
Lacanthis (Raf.)
M.G.Gilbert,
nomenclature,
lectotypification.

INTRODUCTION

The genus *Euphorbia* L., distributed worldwide, is one of the most diversified Angiosperm genera with over 2000 species. The Malagasy spiny succulent *Euphorbia*, constituting the subgenus *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert, are grown worldwide and are internationally renowned for their numerous species, hybrids and cultivars, especially those originating from the famous Malagasy red-flowered Crown-of-Thorns (*Euphorbia milii* Des Moul.). The taxonomy of this reputedly difficult group of plants is particularly chaotic, and more than any other group of this huge genus, requires to be revised. Although the majority of the numerous specific epithets in use are valid, most of the infraspecific names, including widely used ones, have not been validly published yet.

The study of the Malagasy *Euphorbia milii* relatives begun with the description of *E. lophogona* by Lamarck (1786: 417), and numbers of species and infraspecific taxa are still being described, forming the most diversified group of *Euphorbia* in Madagascar with the 114 taxa cited in this paper (the total number of *Euphorbia* taxa in Madagascar is estimated at c. 170).

The Malagasy flora has always inspired interest among botanists and succulent enthusiasts and has been studied by many. However, only a few monographic works dealing with *Euphorbia* (particularly the succulent spiny taxa), have resulted.

Those of Denis (1921), Ursch & Leandri (1954), Rauh (1995, 1998) and Haevermans (2003) are the most recent works dealing with these interesting Malagasy xerophytic taxa. The species treated here are all members of the subgenus *Lacanthis* (Raf.) M.G.Gilbert, for which a phylogenetic analysis, with a non-formal re-circumscription exclusively restricted to all the Malagasy endemics has been published (Haevermans *et al.* 2004).

MATERIAL AND METHODS

Specific and infraspecific names of *Euphorbia* subgenus *Lacanthis* were inventoried by compiling appropriate literature, and examining herbarium collections. The *International Code of Botanical Nomenclature* (ICBN), Vienna version (McNeill *et al.* 2006) was strictly applied for assessing the validity and legitimacy of the names. As a result, the necessary nomenclatural acts were made for several names found to require clarification in respect to their application. As a general rule, we chose lectotypes according to the relative quality and preservation of the specimens.

For each type, herbarium acronyms are listed and an exclamation mark behind the herbarium acronym is used to indicate the specimens examined (otherwise noted as "not seen"). Label data and digital images from the type specimens housed at the Paris herbarium

(P) are available in the online herbarium database “Sonnerat” (<http://www.mnhn.fr/base/sonnerat.html>) by entering the accession numbers given.

For the species described by Ursch & Leandri (1954), mostly based on cultivated plants in the Parc de Tsimbazaza (Antananarivo, Madagascar) and present at P under Leandri’s collection numbers, it is assumed that the specimens were pressed at the time of the description and drawing of the figures, and thus are to be considered as types. This choice is justified because several illustrations clearly represent the drawings of the pressed material available at P (e.g., *E. beharensis* Leandri var. *guillemettii* (Ursch & Leandri) Rauh).

NOMENCLATURAL TREATMENT

VALIDLY PUBLISHED NAMES

1. *Euphorbia alfredii* Rauh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 59 (5): 209 (1987). — Type: “terrestrial on limestone in a deciduous xerophytic forest north of Ambilobe, northwestern Madagascar, at about 200m elev., june 1985”, *B.G.H.* 67092, *A. Razafindratsira s.n.*, (holo-, HEID!, *in spiritu*).

2. *Euphorbia ambarivatoensis* Rauh & Bardot-Vaucoulon

Succulentes 3: 4 (1999). — Type: “*in rupibus calcariis, Falaises de l’Ankarana, apud Ambarivato*, november 30, 1997”, *Bardot-Vaucoulon & Andrianantoanina 1006* (holo-, P! [P00309518]; iso-, TAN!).

3. *Euphorbia ambovombensis* Rauh & Razaf.

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 59 (6): 251 (1987). — Type: “growing in black soil, in deep shade of a xerophilous bush, 10 km north of Ambovombe (southern Madagascar), june 1987”, *Rauh 68656* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

4. *Euphorbia analavelonensis* Rauh & Mangelsdorff

Succulentes 1: 3 (2000). — Type: “*pendens in rupibus praeruptis lapidis harenosi faucium angustarum profunde*

incissarum apud Analavelonam (prov. Toliary), march 1997”, *B.G.H.* 75090 coll. *R.D. Mangelsdorff* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

5. *Euphorbia annamariae* Rauh

Euphorbia Journal 7: 21 (1991). — Type: “coastal forest near St. Luce, not far from Fort Dauphin in southeast Madagascar, june 1961”, *Rauh & Buchloh 7557* (holo-, HEID!).

6. *Euphorbia ankarensis* Boiteau

Bulletin trimestriel de l’Académie malgache 24: 86 (1942). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 15”, integrated in the herbarium as *Leandri 2387* (lecto-, P! [P00220599], designated by Ursch & Leandri [1954: 136]).

REMARK

This species collected by H. Humbert on limestone rocks in Ankarana was put in cultivation in the botanical garden of Tsimbazaza in 1938 under the number 15. The lectotype chosen by Ursch & Leandri (1954), was collected by E. Ursch in 1953 and deposited at P under the number *Leandri 2387*, bearing the mention “Jardin de Tsimbazaza n° 15”.

7. *Euphorbia ankazobensis* Rauh & Hofstätter

Succulentes 3: 6 (2000). — Type: “*Residua silvae frondiferae, circa Ankazobe, Prov. Antananarivo*, October 5, 1989”, *B.G.H.* 70598 coll. *S. Hofstätter*, (holo-, HEID!, *in spiritu*).

8. *Euphorbia banae* Rauh

Kakteen und Andere Sukkulente 44 (1): 2 (1993). — Type: “*in silva arida ad calcem, inter Ampaninihy [Ampanihy] et Androka, Madagascar meridionalis occidentalis*, march 1992”, *Rauh 73031* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

9. *Euphorbia beharensis* Leandri var. *beharensis*

Notulae Systematicae 12: 164 (1946). — Type: “vallée de la moyenne Mananara (limite orientale de l’Androy): rocailles gneissiques, 26 Novembre 1931”, *Decary 9435* (lecto-, P! [P00077906], here designated).

REMARK

Leandri based this species on two syntypes from Behara (province de Fort-Dauphin). Other former

syntype: “sable gneissique, 10 Juillet 1926”, *Decary 4276* (P! [P00077907]).

10. *Euphorbia beharensis* Leandri
var. *adpressifolia* Rauh

Tropische und Subtropische Pflanzenwelt 100: 13 (1999). — Type: “circa Beharam, in harena, in territorio var. beharensis, 1996”, *Rauh 74672* (holo-, HEID!, in spiritu).

11. *Euphorbia beharensis* Leandri
var. *squarrosa* Rauh

Tropische und Subtropische Pflanzenwelt 100: 14 (1999). — Type: “silva xerophytica ad Lac Anony, Provincia Tolanaro, Madagascar meridionalis-occidentalis, 1996”, *Rauh 74989* (holo-, HEID!, in spiritu).

12. *Euphorbia beharensis* Leandri
var. *truncata* Rauh

Tropische und Subtropische Pflanzenwelt 100: 11 (1999). — Type: “silva Didiereacearum apud Behara in harena (Madagascar meridionalis-occidentalis), march 1987”, *Rauh 68567* (holo-, HEID!, in spiritu).

13. *Euphorbia berevoensis* Lawant & Buddens.

Euphorbia World 4 (1): 6 (-11; figs 1-10) (2008). — Type: “Between Berevo and the river Tsirihibina”, *W. Rössli & Hoffmann 43/93* (holo-, P! [P00577728]).

14. *Euphorbia berorohae* Rauh & Hofstätter

British Cactus and Succulent Journal 13 (3): 94 (1995). — Type: “rocky slopes near the village of Beroroha at the river Mangoky, southern Madagascar”, *B.G.H. 74465 coll. S. Hofstätter s.n.* (holo-, HEID!, in spiritu).

15. *Euphorbia bevilaniensis* Croizat

National Horticultural Magazine 1934 (Jan.): 96 (1934). — *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook. var. *bevilaniensis* (Croizat) Leandri, *Notulae Systematicae* 12: 159 (1946). — *Euphorbia milii* Des Moul. var. *bevilaniensis* (Croizat) Ursch & Leandri, *Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 150 (1954). — Type: “Bevilany, limite de

l'Anosy et de l'Androy, Forêt gneissique, 14-11-1932”, *Decary 10956* (holo-, P! [P00077911]).

REMARK

Croizat (1934) does not cite the collection number but mentions the tag and data actually written on it, *Decary 10956* is the only specimen housed at P which corresponds exactly to this name and this description.

Ursch & Leandri (1954) consider this name to apply to a variety of *Euphorbia milii* Des Moul., to be called *Euphorbia milii* Des Moul. var. *bevilaniensis* (Croizat) Ursch & Leandri.

16. *Euphorbia biaculeata* Denis

Les euphorbiées des îles australes d'Afrique: 75, fig. 18 (1921). — Type: “Plateau Mahafaly, 1910”, *Perrier de la Bâthie 9764* (holo-, P! [P00077899]).

17. *Euphorbia boissieri* Baillon

Adansonia 1: 142 (1860-1861). — Type: “Sainte-Marie de Madagascar, forêt de Tafondrou, décembre 1849”, *Boivin 18823* (holo-, P! [P00077912]).

REMARK

The sheet P00077912 bears the unpublished name “*Euphorbia bailloni* Boiss.” likely handwritten by Boissier.

18. *Euphorbia boiteau* Leandri

Notulae Systematicae 12: 163 (1946). — Type: “vallée moyenne du Mandrare, près Anadabolava: forêt sèche, altitude: 200-250 m, décembre 1933”, *Humbert 12484* (holo-, P! [P00077901]; iso-, P! [P00077902, P00077903]).

19. *Euphorbia bojeri* Hook.

Curtis's Botanical Magazine 63: t. 3527 (1836). — *Sterigmanthe bojeri* (Hook.) Klotzsch & Garcke, *Monatsberichte der Königlich Preussischen Akademie der Wissenschaften zu Berlin*: 252 (1859). — Type: *Curtis's Botanical Magazine* 63: t. 3527 (1836) (holo-, !).

REMARK

Taxonomic synonym of *Euphorbia milii* Des Moul.

20. *Euphorbia brachyphylla* Denis

Les euphorbiées des îles australes d'Afrique: 80 (1921). — Type: "région du centre: grès liasique de la Manamatz, Bassin du Mangoky, 1911", *Perrier de la Bâthie* 9652 (holo-, P! [P00077919]; iso-, P! [P00220709]).

21. *Euphorbia bulbispina* Rauh & Razaf.

Euphorbia Journal 7: 31 (1991). — Type: "on limestone rocks on the top of the Windsor Castle; near Diégo-Suarez, northern Madagascar", *B.G.H.* 68664 coll. *A. Razafindratsira s.n.* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

22. *Euphorbia capmanambatoensis* Rauh

Kakteen und Andere Sukkulente 46 (9): 219 (1995). — Type: "Madagascar boreo-orientalis, Cap Manambato, ad saxa syenitica in fissuris rupium, 20-50 m.s.m., plerumque consociata *Aloe fragilis*, 1993", *Rauh* 73995 (holo-, HEID!, *in spiritu*).

23. *Euphorbia capsaintemariensis* Rauh
var. *capsaintemariensis*

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 25 (4): 100 (1970) (as "*cap-saintemariensis*"). — *Euphorbia decaryi* Guillaumin var. *capsaintemariensis* (Rauh) Cremers, *Bulletin du Jardin botanique de l'État, Bulletin van den Rijksplantentuin* 54(3/4): 371, fig. 8B (1984). — Type: "Madagascar meridionalis, in terracinis calcaribus apud Cap Ste. Marie, 100 m.s.m.", *Rauh* M1194 (holo-, HEID!, *in spiritu*).

REMARK

Cremers (1984) considers this name to apply to a variety of *Euphorbia decaryi* Guillaumin to be called *Euphorbia decaryi* Guillaumin var. *capsaintemariensis* (Rauh) Cremers.

24. *Euphorbia capsaintemariensis* Rauh
var. *tulearensis* Rauh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 50 (6): 263 (1978). — Type: "Madagascar austro-occidentalis prope viam Tulear, St. Augustin in rupibus calcareis sub fructibus, august 1961", *Rauh* 7603 (holo-, HEID!, *in spiritu*).

REMARK

Rauh (1988: 184) considers this taxon to be a distinct species called *Euphorbia tulearensis* (Rauh) Rauh.

25. *Euphorbia capuronii* Ursch & Leandri

Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 170, fig. 50 (1954). — Non *Euphorbia capuronii* Leandri, *Bulletin de la Société botanique de France* 103 (9-10): 608 (1956), *nomen illegitimum*. — Type: "Jardin de Tsimbazaza sous le n° 28, plante récoltée sur le plateau Mahafaly", integrated in the herbarium as *Leandri* 4388 (holo-, P! [P00577115]).

REMARK

The name *Euphorbia capuronii* Leandri being a later homonym is illegitimate according to McNeill *et al.* (2006: Art. 53.1).

26. *Euphorbia caput-aureum* Denis

Les euphorbiées des îles australes d'Afrique: 73 (1921) (as "*Caput aureum*"). — Type: "rocailles gréseuses dénudées du M^e Mahabenofa vers 450 m d'altitude (vallée de la Manonkalala, vers le Nord de l'île)", XI.1909, *Perrier de la Bâthie* 10695 (lecto-, P! [P00577109], here designated).

27. *Euphorbia cremersii* Rauh & Razaf.
var. *cremersii*

Euphorbia Journal 7: 23 (1991). — Type: "western highland on the road between Maevatanana and Majunga (Antanimbary, north of Antsiabotsira [Antsiabositra]), in laterite, between grasses, growing in a forest, 1987", *B.G.H.* 68506 coll. *A. Razafindratsira s.n.* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

28. *Euphorbia cremersii* Rauh & Razaf.
forma *viridiflora* Rauh

Euphorbia Journal 7: 25 (1991). — Type: "western highland on the road between Maevatanana and Majunga (Antanimbary, north of Antsiabotsira [Antsiabositra]), in laterite, between grasses, growing in a forest, 1987", *B.G.H.* 68506/a coll. *A. Razafindratsira s.n.* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

29. *Euphorbia croizatii* Leandri

Notulae Systematicae 12: 160 (1946) (as "*croizati*"). — Type: "Ampilira (nord-est de l'Androy), rocailles gneissiques, 23 novembre 1939", *Decary* 9373 (lecto-, P! [P00094462], here designated).

REMARK

Other syntype: “Ampasimpolaka, à l’est d’Ambovombe, sur les cipolins, 29 juin 1931”, *Decary 9041* (P! [P00094461]).

30. *Euphorbia cylindrifolia* Marn.-Lap. & Rauh
subsp. *cylindrifolia*

Kakteen und Andere Sukkulente 12 (5): 66 (1961). — Type: “in silvis arenibus *Alluaudiae* generis inter Manambaro et Fort Dauphin in regione orientis 45 km a Fort Dauphin distante (Madagascar austro-orientalis), august 1959”, *Rauh M 1239* (holo-, P! [P00077957]).

31. *Euphorbia cylindrifolia*
subsp. *tuberifera* Rauh

Kakteen und Andere Sukkulente 14 (1): 5 (1963). — Type: “Habitat in silvis xerophilis generis *Alluaudiae* inter Amboasary et Fort-Dauphin apud km 433, september 1961”, *Rauh 7480* (holo-, P! [P00077956]).

32. *Euphorbia decaryi* Guillaumin var. *decaryi*

Bulletin du Muséum d’Histoire naturelle, Paris, série 2, 6 (1): 120 (1934). — Type: “dunes et sables de Vinanibe près de Fort Dauphin, 10 juillet 1932”, *Decary 10056* (holo-, P! [P00077958]).

33. *Euphorbia decaryi* Guillaumin
var. *ampanihyensis* Cremers

Bulletin du Jardin botanique de l’État, Bulletin van den Rijksplantentuin 54 (3/4): 373, fig. 8B (1984). — Type: “bush calcaire à 30 km au S d’Ampanihy, novembre 1962”, *Bosser 16925* (holo-, P! [P00077959]).

34. *Euphorbia decaryi* Guillaumin
var. *robinsonii* Cremers

Bulletin du Jardin botanique de l’État, Bulletin van den Rijksplantentuin 54 (3/4): 373, fig. 8B (1984). — Type: “Jardin botanique de Tsimbazaza (collection n° 76, originaire de Tuléar)”, *Robinson s.n.* (holo-, P! [P00077962]).

35. *Euphorbia decaryi* Guillaumin var.
spirosticha Rauh & Buchloh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 58 (1): 9 (1986). — Type: “forming extensive stands in the under-

story of *Alluaudia procera* forests near Ampotaka (south of Ampanihy), at the Manarandra [Menarandra] River in southwestern Madagascar, november 1961”, *Rauh & Buchloh 7599* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

36. *Euphorbia delphinensis* Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 166, fig. 48 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 3, plante récoltée par M. Duran à Fort-Dauphin”, integrated in the herbarium as *Leandri 2407* (holo-, P! [P00077966]).

37. *Euphorbia denisiana* Guillaumin

Bulletin du Muséum d’Histoire naturelle, série 2, 1 (6): 448 (1929). — Type: “1926”, *Denis f. 242* (holo-, P! [P00077965]).

REMARK

On the label of *Denis f. 242* is written “probablement recueillie par Humbert”.

38. *Euphorbia didiereoides* Denis ex Leandri

Bulletin du Muséum d’Histoire naturelle, série 2, 6 (1): 121 (1934). — Type: “gneiss (rocailles dénudées) sur la Zomandao, vers 700 m d’alt.”, *Perrier de la Bâthie 12873* (lecto-, P! [P00077967], here designated; isolecto-, P! [P00221606]).

OTHER SYNTYPES. — “Rocailles, sur la Zomandao”, *Perrier de la Bâthie 16533* (P! [P00221607, P00221608]).

39. *Euphorbia duranii* Ursch & Leandri
var. *duranii*

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 160, fig. 44 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 2, plante récoltée par Duran dans la 5^e réserve naturelle”, integrated in the herbarium as *Leandri 2406* (holo-, P! [P00077969]).

REMARK

Originally published as “*durani*”, but corrected in “*duranii*” according to McNeill *et al.* (2006: Art. 60.11).

40. *Euphorbia duranii* Ursch & Leandri
var. *ankaratrae* Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 160, fig. 45 (1954). — Type: “Jar-

din de Tsimbazaza n° 10, plante récoltée à Ankaratra”, integrated in the herbarium as *Leandri 2383* (holo-, P! [P00077968]).

41. *Euphorbia erythroculata* Mangelsdorff

Haseltonia 11: 3 (-10; figs 1, 2, 3a-d, 4-7) (2005). — Type: “Prov. Toliara, SW of Manja, 21°28’39”S, 44°E, 2002-11-14, Growing on low ridges of coralline limestone covered with rather dense, succulent-rich deciduous forest”, *W.Röösli & R.Hoffmann 9/02* (holo-, MO; iso-, P! [P00573483]).

42. *Euphorbia fanarantsoae* Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 164, fig. 47 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 24, plante récoltée à Fianarantsoa”, integrated in the herbarium as *Leandri 2393* (holo-, P! [P00077982]).

43. *Euphorbia francoisii* Leandri var. *francoisii*

Notulae Systematicae 12: 161 (1946). — Type: “environs de Fort-Dauphin, entre le pic St Louis et la mer, sable, altitude 1-25 m, entre le 20 septembre et le 6 octobre 1928”, *Humbert 5978* (holo-, P! [P00077987]; iso-, P! [P00077988, P00077989]).

REMARK

Originally published as “*francoisi*” but corrected in “*francoisii*” according to McNeill *et al.* (2006: Art. 60.6 and 60.11; the French “ç” being a diacritic sign is to be corrected).

44. *Euphorbia francoisii* Leandri
var. *crassicaulis* Rauh

Euphorbia Journal 10: 175 (1996). — Type: “under dense bushes near the coast, close to the village of Andrahomana (in southern Ranopiso, between Tolanaro and Amboasary), march 1993”, *Rauh 73936* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

REMARK

Rauh (1998: 177) mentions the name *Euphorbia francoisii* var. *crassicaulis* forma *rubrifolia* Rauh which is an invalidly published *nomen nudum*.

45. *Euphorbia francoisii* Leandri
var. *rakotozafyi* Cremers

Bulletin du Jardin botanique de l’État, Bulletin van den Rijksplantentuin 54 (3/4): 377, figs 3-8C (1984). — *Euphorbia cremersii* var. *rakotozafyi* (Cremers) Rauh, *Succulent and Xerophytic Plants of Madagascar*, vol. 1: 172 (1995). — Type: “originaire de Madagascar, sans localisation précise, en culture au Jardin de Tsimbazaza (collection n° 63), 5 décembre 1974”, *Cremers 3541* (holo-, P! [P00077990]).

REMARK

Rauh (1995) considers this name to apply to a variety of *Euphorbia cremersii* Rauh & Razaf., to be called *Euphorbia cremersii* Rauh & Razaf. var. *rakotozafyi* (Cremers) Rauh.

46. *Euphorbia fournieri* Rebut

Lyon Horticole 15: 22 (1893). — Type: not designated.

REMARK

Euphorbia fournieri is a synonym of the cultivated plant known at the time in Europe under the name of *Euphorbia lophogona sensu auct.*, non *Euphorbia lophogona* Lam. The description of Rebut matches perfectly *E. leuconeura* Boiss. Therefore *Euphorbia fournieri* is treated as a taxonomic synonym of *Euphorbia leuconeura* Boiss. as suggested by Marnier-Lapostolle & Leandri (1956).

47. *Euphorbia genoudiana* Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 172, fig. 51 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 4, plante récoltée en pays Mahafaly”, integrated in the herbarium as *Leandri 2408* (holo-, P! [P00077991]).

48. *Euphorbia geroldii* Rauh

Succulentes 1: 5 (1994). — Type: “*silva litoralis, ad harenam, circa Iharana (= Vohémar) in regione Ambilobe, Madagascar orientalis-septentrionalis*”, March 1993”, *Rauh 73926* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

49. *Euphorbia gottlebei* Rauh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 64 (1): 14 (1992). — Type: “steep limestone slopes of the Fiherenana

Valley, northwest of Sakarah [Sakaraha], about 500 m, november 1990", *Rauh 72185* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

50. *Euphorbia guillauminiana* Boiteau

Bulletin trimestriel de l'Académie malgache 24: 87 (1942). — Type: "basaltes à Ambarijeby, District d'Analalava (Ouest)", *Decary 16436* (holo-, not located).

51. *Euphorbia guillemetii* Ursch & Leandri

Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 168, fig. 49 (1954). — *Euphorbia beharensis* Leandri var. *guillemetii* (Ursch & Leandri) Rauh, *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt* 100: 10 (1999). — Type: "Jardin de Tsimbazaza sous le n° 36, plante récoltée à Ranomainty", integrated into the herbarium as *Leandri 2398* (holo-, P! [P00077992]).

REMARK

Rauh (1999) considers this name to apply to a variety of *Euphorbia beharensis* Leandri, to be called *Euphorbia beharensis* Leandri var. *guillemetii* (Ursch & Leandri) Rauh.

52. *Euphorbia hermanschwartzii* Rauh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 63 (5): 246 (1991) (as "*herman-schwartzii*") — Type: "Schrattenskalk" plateau of the western Falaise de l'Ankarana, south of Diégo Suarez, november 1990", *Rauh 72125* (holo-, HEID!, *in spiritu*; iso-, P, *in spiritu*, not found).

53. *Euphorbia hexadenia* Denis

Les euphorbiées des îles australes d'Afrique: 49 (1921). — *Euphorbia daphnoides* Baill., *Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Paris* 1 (84): 671 (1887). — Not *E. daphnoides* Balf.f., *Journal of the Linnean Society*, Botany 16: 21 (1877). — Type: "Vavatóbé: Belinta, February 1880", *Hildebrandt 3333bis* (holo-, P! [P00077996]).

REMARK

Euphorbia daphnoides Baill. was renamed "*Euphorbia hexadenia*" by Denis (1921) because the epithet "*daphnoides*" had already been used by Balfour 10 years earlier (Balfour 1877) for an endemic of Rodrigues.

54. *Euphorbia hislopii* N.E.Br.

Bulletin of Miscellaneous Information, Royal Gardens, Kew 8: 304 (1913). — *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook. var. *hislopii* (N.E.Br.) Leandri, *Notulae Systematicae* 12: 159 (1946). — *Euphorbia milii* Des Moul. var. *hislopii* (N.E.Br.) Ursch & Leandri, *Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 150 (1954). — Type: "Brought from Durban by Mr. A. Hislop, May 1911", *Hislop s.n.* (holo-, K! [K000185057]).

REMARK

We consider this name to apply to a variety of *Euphorbia milii*, to be called *Euphorbia milii* Des Moul. var. *hislopii* (N.E.Br.) Ursch & Leandri.

55. *Euphorbia hofstaetteri* Rauh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 64 (3): 112 (1992). — Type: "plateau de la Table, near Toliara and Tongobory, august 1991", *B.G.H. 73040 coll. S. Hofstätter s.n.* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

56. *Euphorbia horombensis* Ursch & Leandri

Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 154, figs 40, 42 (1954). — Type: "Jardin de Tsimbazaza n° 5, plante récoltée par Poisson sur le plateau Horombe", integrated in the herbarium as *Leandri 2409* (lecto-, P! [P00078001], here designated).

REMARK

Ursch & Leandri based this name on two plants cultivated in the Jardin botanique de Tsimbazaza under numbers 5 and 35, Horombe, the first one being collected by Dr Poisson, the second one brought by an unknown collector. A herbarium specimen exists at P from the plant number 5, but a specimen corresponding to the second plant, number 35, cannot be found. We thus chose to lectotypify on the sole original specimen left at P.

57. *Euphorbia iharanae* Rauh

Kakteen und Andere Sukkulente 46 (9): 221 (1995). — Type: "*In locis saxosis montium costae septentrionalis Cap Manambato (in districtu Iharanae), Madagascar septen-*

trialis orientalis, January 1995”, B.G.H. 74412 coll. A. Razafindratsira (*Antananarivo*) s.n. (holo-, HEID!, *in spiritu*).

58. *Euphorbia isalensis* Leandri

Notulae Systematicae 12: 163 (1946). — Type: “grès et sables siliceux, alt. 400-1000 m., fruits en octobre”, *Humbert* 2761 (lecto-, P! [P00078015], here designated).

OTHER SYNTYPES. — “Jardin botanique de Tsimbazaza, à Tananarive, rapportée probablement de l’Isalo par le Pr Humbert”, *H. Perrier* s.n. (syn-, P [P00221824]!). — “Grès et sables siliceux, alt. 400-1000 m, fleurs en octobre”, *Humbert* 2786 (syn-, P! [P00078016, P00078017]).

REMARK

Leandri published this name with the written indication “*sp. nov. interim.*”. But later, he rejected this name: “le nom *E. isalensis* [...] doit être rejeté comme homonyme récent (différant par une seule lettre) d’une espèce douteuse” (the name *E. isalensis* [...] must be rejected as a recent homonym (differing by a single letter) of a dubious species). The name however is validly published and all the original material survived, hence its inclusion in this part of the paper (see *Euphorbia isaloensis* Drake in the *Incertae sedis* section).

59. *Euphorbia itremensis* Kimnach & Lavranos

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 73 (1): 42 (2001). — Type: “Madagascar: c. 25 km W of Col d’Itremo, October 19, 1995”, *J. Lavranos* 30000. *G. Barad, G. James, M. Kimnach & S. Linden* (holo-, P! [P00577113]; iso-, HNT, not seen).

60. *Euphorbia kondoi* Rauh & Razaf.

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 61 (3): 113 (1989). — Type: “xerophytic bush on limestone, 300 m, Prov. of Toliary (Tuléar), southwest Madagascar, 1986”, B.G.H. 69087 coll. A. Razafindratsira s.n., (holo-, HEID!, *in spiritu*).

61. *Euphorbia labatii*

Rauh & Bardot-Vaucoulon

Succulentae 4: 3 (1999). — Type: “Andriafiabe [Andrafiabe], Réserve spéciale de l’Ankarana, Camp des

Américains, 28 novembre 1996”, *Labat* 2838 (holo-, P! [P00078803]; iso-, TAN!).

62. *Euphorbia leuconeura* Boiss.

De Candolle Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis 15 (2): 78 (1862). — Type: “vallée de l’Andalany, affluent de l’Androranga (bassin de la Bemarivo du nord-est), forêt ombrophile sur gneiss, altitude: 200-800 m, 12-14 novembre 1950”, *Humbert* 24215 (neo-, P! [P00221853], here designated; isoneo-, K!, MICH!, MO!, P! [P00577110], TAN!).

REMARK

Boissier based this species on living specimens brought from Madagascar by Richard, but no herbarium material of this plant has been kept, and Denis (1921) and Ursch & Leandri (1954) considered the species as insufficiently known. Marnier-Lapostolle & Leandri (1956) wrote that the plant known and cultivated in European greenhouses under the name of *Euphorbia lophogona* was in fact the real *E. leuconeura*. This one was largely diffused in Europe under the name of *E. lophogona* (as specified in the diagnose by Boissier), while the real *E. lophogona* described by Lamarck doesn’t seem to have ever been established in cultivation in Europe at this time (see *Euphorbia fournieri* Rebut).

63. *Euphorbia lophogona* Lam. var. *lophogona*

Encyclopédie méthodique botanique 2: 417 (1786). — Type: “Isle de Madagascar”, *Commerçon* s.n. (holo-, P-LA[P00381923]!; iso-, P-JU!, P! [P00078024, P00078025]).

REMARK

In the *Encyclopédie méthodique*, Lamarck (1786) describes the species number 14 as “*Euphorbia lophogona*” followed by a latin description, and then the following mention “*Euphorbia Madagascariensis*. Commers. Herb. & Ic. *Be-tanghan* (grande main) *indigenis*”. We think this sentence should not be interpreted as the valid publication of a new name, junior synonym of *Euphorbia lophogona* Lam., authored by Commerçon ex Lamarck, but should be translated as “a Madagascan *Euphorbia*. Found in Commerçon’s herbarium and Illustrated. Known

under the indigenous name of ‘be-tanghan’ (big hand). “*Euphorbia madagascariensis* Comm. ex Lam.”, cited by various sources (<http://www.ipni.org>) as a synonym of *Euphorbia lophogona* Lam. has in fact never been published.

The holotype is the fragment of flower found in Lamarck Herbarium (P-LA) with the mention “flower of euphorbia number 14” by his own hand. Isotypes are found in both the Jussieu Herbarium (P-JU) and the general collection (P).

64. *Euphorbia lophogona* Lam.
var. *tenuicaulis* Rauh

Euphorbia Journal 7: 23 (1991). — Type: “coastal forest near St. Luce, not far from Fort Dauphin in southeast Madagascar, June 1987”, *Rauh* 68607 (holo-, HEID, *in spiritu*).

65. *Euphorbia mahafalensis* Denis

Les euphorbiées des îles australes d’Afrique: 78, fig. 21 (1921). — Type: “plateau calcaire Mahafaly, sur les rocs, juin 1910”, *Perrier de la Bâthie* 9781 (holo-, P! [P00078026]; iso-, P! [P00221854]).

66. *Euphorbia mainiana* H. Poisson

Recherches sur la flore méridionale de Madagascar: 37 (1912). — Type: “Monts Mainia [La Table, prov. de Tuléar]”, *Geay* 5929 (holo-, P! [P00078027]).

67. *Euphorbia mangelsdorffii* Rauh

Kakteen und Andere Sukkulente 49 (2): 44 (1998). — Type: [“zwischen Sambava und Andapa, 600 m.”], III. 1997, *B.G.H.* 74947 coll. *R.D. Mangelsdorff s.n.* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

68. *Euphorbia mangokyensis* Denis

Les euphorbiées des îles australes d’Afrique: 80, fig. 22 (1921). — Type: “rocailles boisées sèches des gneiss et cipolins, bassin du Mangoky, 1911”, *Perrier de la Bâthie* 9660 (lecto-, P! [P00078039], here designated; isolecto-, P! [P00078040]).

REMARK

Other syntypes: “rocailles boisées sèches des gneiss et cipolins, bassin du Mangoky, 1911”, *Perrier de la Bâthie* 9660 (P! [P00078039, P00078040]).

69. *Euphorbia melanacantha* Drake

Bulletin du Muséum d’Histoire naturelle 1903: 45 (1903). — Type: “Tsilamaha (octobre 1901)”, *Grandidier s.n.* (holo-, P! [P00577112]).

REMARK

Taxonomic synonym of *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook. (Denis 1921), to be called *Euphorbia milii* Des Moul. var. *splendens* (Bojer ex Hook.) Ursch & Leandri.

70. *Euphorbia milii* Des Moul. var. *milii*

Bulletin de l’Histoire naturelle de la Société linnéenne de Bordeaux 1: 27, pl. 1 (1826). — Type: Des Moulins, *Bulletin de l’Histoire naturelle de la Société linnéenne de Bordeaux* 1: t. 1 (1826) (holo-, !).

REMARK

The original wild locality in Madagascar remains unknown. Newton (1994) designated improperly a lectotype (McNeill *et al.* 2006: Art. 9.1) which is in fact the holotype: “the plate in the protologue with drawings of the plant”.

We consider this name to apply to a distinct species, thus called *Euphorbia milii* Des Moul.

71. *Euphorbia milii* Des Moul. var. *bosseri* Rauh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 42 (6): 271 (1970). — *Euphorbia neobosseri* (Rauh) Rauh, *Cactus and Succulent Journal* (Los Angeles) 64(5): 264 (1992) (as “*neo-bosseri*”). — Type: “forest of Sakaraha, east of Toliara (Tuléar)”, *B.G.H.* 70856 (holo-, HEID!, *in spiritu*).

REMARK

Rauh (1992a) considers this name to apply to a distinct species, thus called *Euphorbia neobosseri* (Rauh) Rauh.

72. *Euphorbia milii* Des Moul.
var. *longifolia* Rauh

Kakteen und Andere Sukkulente 18 (10): 182 (1967). — Type: “*In collibus gneissiacis 20 km in directione meridionali a Betroka distantibus*, 1959”, *Rauh* M1464 (holo-, HEID!, *in spiritu*).

73. *Euphorbia milii* Des Moul.
var. *roseana* Marn.-Lap. ex J.-P. Demoly

Journal botanique de la Société botanique de France 18-19: 189 (2002). — Type: “Jardin botanique Les Cèdres, déc. 1997 (fl.)”, *M. Teissier s.n.* (holo-, P! [P00577111]).

REMARK

Marnier-Lapostolle based this name on a cultivated plant brought back from Zombitsy by Montagnac. However the name is a *nomen nudum* as he did not cite a type in his paper (Marnier-Lapostolle 1962). Demoly (2002) later validated this name by designating a holotype (improperly called a neotype in the publication).

74. *Euphorbia milii* Des Moul.
var. *tenuispina* Rauh & Razaf.

Euphorbia Journal 7: 34 (1991). — Type: “mountains in the region of Ihosy et Isalo, southern Madagascar”, *B.G.H. 68736 coll. A. Razafindratsira s.n.* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

75. *Euphorbia milii* Des Moul.
var. *tulearensis* Ursch & Leandri

Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 152, fig. 40 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 13, plante récoltée à Tuléar”, integrated in the herbarium as *Leandri 2385* (holo-, P! [P00078047]).

76. *Euphorbia millotii* Ursch & Leandri

Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 138, fig. 33 (1954) (as “*milloti*”). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 14, plante récoltée par Millot”, integrated in the herbarium as *Leandri 2386* (holo-, P! [P00078049]).

77. *Euphorbia moratii* Rauh var. *moratii*

Kakteen und Andere Sukkulente 21 (8): 153 (1970). — Type: “Antsingy (Reserv. Nat. Nr. 9) prope Bekopaka in vertice montium Falaise Nord in saltibus Manambalo [manambolo]”, *Morat 1484* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

78. *Euphorbia moratii* Rauh
var. *antsingiensis* Cremers

Bulletin du Jardin botanique de l'État, Bulletin van den Rijksplantentuin 54 (3/4): 382, figs 5E-H, 8D (1984). — Type: “sur calcaire de l'Antsingy vers Bevary (E. d'Antsalova), entre le 27 janvier et le 5 février 1960”, *Leandri & Saboureau 2938* (holo-, P! [P00078054]).

79. *Euphorbia moratii* Rauh
var. *bemaraensis* Cremers

Bulletin du Jardin botanique de l'État, Bulletin van den Rijksplantentuin 54 (3/4): 381, figs 5I-L, 8D (1984). — Type: “Tsingy du Bemaraha, réserve n° 9”, *Morat 1355* (holo-, TAN! [TAN000554]).

80. *Euphorbia moratii* Rauh
var. *multiflora* Rauh

Euphorbia Journal 7: 27 (1991). — Type: “probably north of Maevatana, on the road to Majunga, without exact locality”, *Ernst Specks ES 602* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

81. *Euphorbia neobosseri* (Rauh) Rauh
var. *itampolensis* Rauh

Tropische und Subtropische Pflanzenwelt 100: 7 (1999). — Type: “ad Itampolo in harena in silvis Didiereacearum”, *B.G.H. 73303 coll. R. Bana* (holo-, HEID!, *in spiritu*).

REMARK

Rauh (1992a) considers the name *Euphorbia milii* Des Moul. var. *bosseri* to apply to a distinct species, called *E. neobosseri* (Rauh) Rauh, of which this name is a variety to be called *E. neobosseri* (Rauh) Rauh var. *itampolensis* Rauh.

82. *Euphorbia neohumbertii* Boiteau
var. *neohumbertii*

Bulletin trimestriel de l'Académie malgache 24: 85 (1942) (as “*neohumberti*”). — Type: “collines et plateaux calcaires de l'Ankarana (province de Diégo-Suarez), forêt trophile entre Ambondrofe et Ambodimandro, rocailles, altitude: 250 m, entre décembre 1937 et janvier 1938”, *Humbert 19008* (neo-, P! [P00078119], here designated).

REMARK

Boiteau (1942) wrote: “plante récoltée par le professeur H. Humbert sur les rocailles calcaires de

l'Ankara (Ouest), mise en culture au Jardin botanique en janvier 1938". The neotype here designated is likely to have been collected at the same time as the live plant on which Boiteau based his description. On this sheet is also written "*Euphorbia viguieri* Denis var. *ankaranensis* Leandri" which constitutes an unpublished *nomen nudum*.

83. *Euphorbia neohumbertii* Boiteau
var. *aureoviridiflora* Rauh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 42 (5): 204 (1970). — *Euphorbia aureoviridiflora* (Rauh) Rauh, *Collectanea Botanica* 21: 207 (1992). — Type: "in steep and almost vertical calcareous rocks of the Montagne des Français near Diego-Suarez, 1969", Rauh 22921 (holo-, HEID!, *in spiritu*).

REMARKS

Rauh (1992b: 207, then again 1995: 297) considers this name to apply to a distinct species, to be called *Euphorbia aureoviridiflora* (Rauh) Rauh.

84. *Euphorbia pachypodioides* Boiteau

Bulletin trimestriel de l'Académie malgache 24: 87 (1942). — *Euphorbia antankara* Leandri, *Notulae Systematicae* 12: 161 (1946), *nom. illeg.* — Type: "collines et plateaux calcaires de l'Ankarana (province de Diégo-Suarez), forêt tropophile, alt. 10-250 m, entre décembre 1937 et janvier 1938", Humbert 18799 (lecto-, P! [P00078060], here designated).

REMARK

Boiteau has only written: "Plante récoltée par H. Humbert sur les rocailles calcaires de l'Ankarana (Ouest), mise en culture au Jardin botanique". We chose to lectotypify *Euphorbia pachypodioides* on the only specimen available at P which matches exactly the text of Boiteau. The name *Euphorbia antankara* Leandri then becomes an illegitimate superfluous name for *E. pachypodioides* because Leandri based his name on the same specimen.

85. *Euphorbia parvicynthophora* Rauh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 58 (4): 143 (1986). — Type: "in pockets of soil on face of cavernous limestone cliff near village of Anjamala on south bank of Fiherenana river, about 45 km east northeast of Tulear, Madagascar; alt. c. 100m.", Lavranos & Morat

9601 (=AbG 75-1116) leg. John Lavranos deposited at Herb. Inst. System. Bot. Univ. Heidelberg, under number B.G.H. 66612, (holo-, HEID!, *in spiritu*).

86. *Euphorbia paulianii* Ursch & Leandri

Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 132, fig. 29 (1954) (as "*pauliani*"). — Type: "Jardin de Tsimbazaza n° 9, plante récoltée dans les Tsingy [Bemaraha]", integrated in the herbarium as *Leandri* 2382 (holo-, P! [P00078064]; iso-, P! [P00078065]).

87. *Euphorbia perrieri* Drake var. *perrieri*

Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle 5 (6): 308 (1899) (as "*perieri*"). — Type: "Firingalava, 1898", *Perrier de la Bâthie* 571 (holo-, P! [P00078070]).

88. *Euphorbia perrieri* var. *elongata* Denis

Les euphorbiées des îles australes d'Afrique: 88 (1921). — Type: "bois sur les grès liasiques du massif de Manongarivo vers 800 m d'alt., avril 1909", *Perrier de la Bâthie* 9916 (holo-, P! [P00078071]).

89. *Euphorbia primulifolia* Baker
var. *primulifolia*

Journal of the Linnean Society, Botany 18: 278 (1881). — Type: Ankaratra mountains, *Kitching s.n.* (holo-, K! [K000185192]; iso-, K! [K000185194]).

REMARK

Published as "*primulaefolia*", which should be treated as an error to be corrected in "*primulifolia*", according to McNeill *et al.* (2006: Art. 60.8 and Rec. 60G).

90. *Euphorbia primulifolia* Baker
var. *begardii* Cremers

Bulletin du Jardin botanique de l'État, *Bulletin van den Rijksplantentuin* 54 (3/4): 386, figs 7, 8 E (1984). — Type: "dans les sables gréseux des vallées encaissées de l'Isalo", *Cremers* 2843 (holo-, P! [P00078085]; iso-, TAN!).

91. *Euphorbia quartziticola* Leandri

Notulae Systematicae 12: 159 (1946). — Type: "Ambatofinandrahana, 11 octobre 1939", *Decary* 14988 (lecto-, P! [P00078088], here designated).

REMARK

Other former syntypes: “ouest d’Ambatofinandrahana, 20 novembre 1939”, *Decary 15131* (P! [P00078089]); “ouest d’Ambatofinandrahana, 20 novembre 1939”, *Decary 15133* (P! [P00078090]).

92. *Euphorbia razafindratsirae* Lavranos

Succulentas 3: 7 (2002). — Type: “in silva xerophila prope urbem Tongobory, lat. 23°30’N, long. 44°20’E, alt. c. 275 m, 1999”, *Razafindratsira s.n.* (holo-, P! [P00577114]).

93. *Euphorbia razafinjohanyi* Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 162, fig. 46 (1954) (as “*razafinjohanii*”). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 26, plante récoltée à Fianarantsoa”, integrated in the herbarium as *Leandri 2395* (holo-, P! [P00078094]).

94. *Euphorbia retrospina* Rauh & Gerold

Succulentas 4: 3 (2000). — Type: “environ d’Antanimora, en direction du Massif d’Angavo, 1998”, *B.G.H. 70625 coll. Mananige-Gerold*, Antananarivo (holo-, HEID!).

95. *Euphorbia robivelonae* Rauh

Succulentas 1: 9 (1994). — Type: “ad ripam et in aqua rivorum lento fluentium inter rupes, in societate cum *Cyperis aquaticis*, in territorio de Forêt de Analava (Iharana-Sambava), march 1993”, *Rauh 73927* (holo-, HEID!, in spiritu).

96. *Euphorbia rossii* Rauh & Buchloh

Kakteen und Andere Sukkulente 18 (11): 202 (1967). — Type: “apud Nosy-Ambositra [Ambositra] in valle fluminis Mongoky [Mangoky] prope Befandriana-Sud in saxis arenaceis, rarius calcareis, october 1961”, *Rauh & Buchloh 7354* (holo-, HEID!, iso-, P! [P00224979]).

97. *Euphorbia sakarahaensis* Rauh

Cactus and Succulent Journal (Los Angeles) 64 (5): 265 (1992). — Type: “in the forest of Sakaraha (Zombitsy), Prov. Toliara, SW Madagascar, nov. 1991”, *B.G.H. 72317 coll. Hofstätter s.n.* (holo-, HEID!, in spiritu).

98. *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook.

Curtis’s Botanical Magazine 56: t. 2902 (1829). — *Steirigmanthe splendens* (Bojer ex Hook.) Klotzsch & Garcke, *Monatsberichte der Königlich Preussischen Akademie der Wissenschaften zu Berlin*: 252 (1859). — *Euphorbia milii* Des Moul. var. *splendens* (Bojer ex Hook.) Ursch & Leandri, *Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 148 (1954). — Type: *Curtis’s Botanical Magazine* 56: t. 2902 (1829) (holo-, !; epi-, P! “*Hab. ad versum agrorum in prov. Emerina [Imerina], nom. mad. Souñg-gow-Souñg-gow, Madagascar*” Bojer s.n. [P00078105], here designated).

REMARK

We chose to designate as an epitype the specimen collected by Bojer which was used by him to make the drawing sent to Hooker and on which he based the description and drawing (Bojer 1829: pl. 2902) of the plant which is the holotype of the name.

We consider this name to apply to a variety of *Euphorbia milii*, to be called *Euphorbia milii* Des Moul. var. *splendens* (Bojer ex Hook.) Ursch & Leandri.

99. *Euphorbia subapoda* Baill.

Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Paris 1 (84): 671 (1887). — Type: “Ambatomenaloha, 1876”, *Grandidier 75* (holo-, P! [P00078084]).

REMARK

Taxonomic synonym of *Euphorbia primulifolia* Baill. var. *primulifolia* according to Denis (1921).

100. *Euphorbia suzannae-marnierae*
Rauh & Pétignat

Succulentas 19 (4): 10 (1996) (as “*suzannae-marnierae*”). — Type: “Madagascar, meridionalis prope Anadobolava (Toliary), in septentrionali ad Amboasary, in silvis caducifoliis”, *Pétignat 397* (holo-, HEID!, in spiritu).

REMARK

The name of the last author was incorrectly spelled “Pétiqnat”.

101. *Euphorbia tardieuana* Leandri

Notulae Systematicae 12: 162 (1946). — Type: “rocaïlles dénudées, sur l’Anosivola, affluent de droite du

Mangoro, novembre 1927”, *Perrier de la Bâthie 18166* (holo-, P! [P00078111]).

102. *Euphorbia thuarsiana* Baill.

Adansonia 1: 139 (1860-1861). — Type: *s. loc.*, *Dupetit-Thouars s.n.* (holo-, P! [P00078108]; iso-, P! [P00078109]).

103. *Euphorbia tsimbazazae* Leandri

Notulae Systematicae 12: 162 (1946). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 11, nov. dec.”, *Boiteau s.n.* (holo-, P! [P00078021]).

REMARK

Leandri based this name on material sent from the botanical garden of Tsimbazaza by Boiteau in 1939 under n° 11. The specimen found at P (P00078021) comprises two labels, one from Boiteau’s hand (corresponding to the material sent by himself and thus likely dating from 1939). This label, the oldest, also bears a more recent handwritten mention incorrectly stating that the specimen was made by E. Ursch. The other label bears the collection number *Leandri 2384* and the name *Euphorbia leandriana* Boiteau, and likely dates from when Ursch & Leandri (1954) attributed to the plant cultivated under n° 11 in the Park of Tsimbazaza, the name of *E. leandriana* Boiteau, while being doubtful on the validity of *E. tsimbazazae* Leandri. Rauh (1992c) attached the name of *E. leandriana* to the type of *E. tsimbazazae* emphasizing the fact that both *E. leandriana* and *E. tsimbazazae* should be treated as dubious species due to inconsistencies between illustrations and specimens in (Ursch & Leandri 1954; Leandri 1946, 1953). We decided not to take into account for now the contradicting taxonomic hypotheses proposed by these authors and instead to follow the strict interpretation of the protologues and specimens available.

104. *Euphorbia viguieri* Denis var. *viguieri*

Les euphorbiées des îles australes d’Afrique: 73 (1921). — Type: “Belumbo, près Mevetanana [Maevatanana], dans les bois rocailleux granitiques”, *Perrier de la Bâthie 949* (lecto-, P! [P00226171]), designated by Ursch & Leandri [1954: 120]).

REMARK

Denis based his species on material collected by P. Boivin and Perrier de la Bâthie but he did not cite a type.

105. *Euphorbia viguieri* Denis
var. *ankarafantsiensis* Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 124, fig. 25 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 41, plante récoltée à Ankarafantsy [Ankarafantsika]”, integrated in the herbarium as *Leandri 2400* (lecto-, P! [P00078118], here designated).

REMARK

Ursch & Leandri based this variety on a plant “cultivée au Jardin botanique sous le n° 41” from Ankarafantsika.

106. *Euphorbia viguieri* Denis
var. *capuroniana* Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 124, fig. 26 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 8, plante récoltée à Diégo”, integrated in the herbarium as *Leandri 2381* (lecto-, P! [P00078120], here designated).

REMARK

Ursch & Leandri based this variety on a plant “cultivée au Jardin botanique sous le n° 8” collected by Humbert & Capuron in Ankara de Diégo.

107. *Euphorbia viguieri* Denis
var. *tsimbazazae* Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 120, fig. 23 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 25”, integrated in the herbarium as *Leandri 2394* (lecto-, P! [P00078116], here designated).

REMARK

Ursch & Leandri based this variety on a plant of unknown origin “cultivée au Jardin botanique sous le n° 25”.

108. *Euphorbia viguieri* Denis var.
vilanandrensis Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 122, fig. 24 (1954). — Type: “Jar-

din de Tsimbazaza n° 40, plante récoltée à Vilanandro”, integrated in the herbarium as *Leandri 2399* (lecto-, P! [P00078117]).

REMARK

Ursch & Leandri based this variety on a plant “cultivée au Jardin botanique sous le n° 40” discovered in the 8^e Réserve naturelle, Vilanandro.

109. *Euphorbia waringiae* Rauh & Gerold

Succulentas 2: 5 (1998). — Type: “*apud Esomony, septentrionalis Amboasary, Madagascar meridionalis-occidentalis, in Sables rouges, in margine silvarum Alluaudiae procerae, 400 m. s. m. Euph. waringiae (de loco aequo numero 75005) etiam in Horto Botanico Universitatis cultivata est, november 1996*”, B.G.H. 74938 coll. Raymond Gerold (holo-, HEID!, *in spiritu*).

110. *Euphorbia xanthadenia* Denis

Les euphorbiées des îles australes d’Afrique: 79 (1921). — *Euphorbia mahafalensis* var. *xanthadenia* Denis (Leandri), *Notulae Systematicae* 12: 158 (1946). — Type: “rocailles gréseuses de Sakamare près de Benenitsa, juillet 1910”, *Perrier de la Bathie 9766* (holo-, P! [P00078124]; iso-, P! [P00226148]).

REMARK

Leandri (1946), in a key, considers this name to apply to a variety of *Euphorbia mahafalensis* Denis, to be called *E. mahafalensis* var. *xanthadenia* (Denis) Leandri.

111. *Pedilanthus lycioides* Baker

Journal of the Linnean Society. Botany 22: 516 (1887). — *Euphorbia pedilanthoides* Denis, *Les euphorbiées des îles australes d’Afrique*: 76, figs 19, 20 (1921). — *Non Euphorbia lycioides* Boiss., *Centuria Euphorbiarum* (1860). — Type: *s.l.*, *Baron 4772* (lecto, K! [K000158067], here designated; isolecto-, K! [K000185062], P! [P00078066]).

REMARK

Denis (1921) could not use the name “*Euphorbia lycioides*”, because this one was used in 1860 by Boissier (1860) for a Brazilian plant and thus re-named *Pedilanthus lycioides* Baker which should be called *Euphorbia pedilanthoides* Denis.

Note the existence at P of an ambiguous syntype: *Baron 4772* and *4792* mounted on one sheet (P! [P00078066]).

NAMES OF HYBRIDS

112. *Euphorbia ×ambohipotsiensis*

Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, *Biologie végétale* 5: 180, fig. 55 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 53”, integrated in the herbarium as *Leandri 2401* (lecto-, P! [P00077931], here designated).

REMARK

Ursch & Leandri based this name on a plant “cultivée sous le n° 53”.

113. *Euphorbia ×andrefandrovana*

Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, *Biologie végétale* 5: 182, fig. 57 (1954). — Type: Ursch & Leandri (1954), *Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar*, série B, *Biologie végétale* 5: 184 t. 57 (holo-, !).

REMARK

Ursch & Leandri (1954) based this species on a plant “cultivée sous le n° 61”. No herbarium material is available, the holotype is thus the illustration number 57 page 184 (McNeill *et al.* 2006: Art 9.1).

114. *Euphorbia ×ingezalahiana*

Ursch & Leandri

Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar, série B, *Biologie végétale* 5: 182, fig. 56 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 57”, integrated in the herbarium as *Leandri 2403* (lecto-, P! [P00078007], here designated).

REMARK

Ursch & Leandri based this species on a plant “cultivée sous le n° 57.”

115. *Euphorbia ×lomi* Rauh

*Kakteen und Andere Sukkulente*n 30 (11): 257 (1979). — Type: “*Madagascar austro-orientalis ad margines et in silvis sempervirentibus et dumetis in directione septentrionali 50 km a Fort Dauphin distante*”, *Rauh 47458* (holo-, HEID, *in spiritu*).

116. *Euphorbia* ×*mitsimbinensis*

Ursch & Leandri

Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 176, fig. 53 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 29”, integrated in the herbarium as *Leandri 2397* (lecto-, P! [P00078050], here designated).

REMARK

Ursch & Leandri based this species on a plant “cultivée au Jardin de Tsimbazaza sous le n° 29”.

117. *Euphorbia* ×*soanieranensis*

Ursch & Leandri

Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 178, fig. 54 (1954). — Type: Ursch & Leandri (1954), *Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 179 t. 54 (holo-, !).

REMARK

Ursch & Leandri based this species on a plant “cultivée sous le n° 49”. No herbarium material is available, the holotype is thus the illustration number 54 page 179 (McNeill *et al.* 2006: Art 9.1).

118. *Euphorbia* ×*zanaharensis* Ursch & Leandri

Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar, série B, Biologie végétale 5: 174, fig. 52 (1954). — Type: “Jardin de Tsimbazaza n° 18”, integrated in the herbarium as *Leandri 2390* (lecto-, P! [P00078128], here designated).

REMARK

Ursch & Leandri based this species on a plant “cultivée au Jardin botanique sous le n° 18.”

INCERTAE SEDIS

119. *Euphorbia isaloensis* Drake

Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle 5 (6): 307 (1899), *non satis cognita*. — Type: “in monte Isalo”, *G. Grandidier s.n.*; “in valle fluminis Mandrany”, *Lamère s.n.* (syn-, not found at P).

REMARKS

Both specimens seem to be lost, even as early as from the time of Denis (1921), who rejects this species: “Je n'ai pas vu cette espèce dont l'exsiccata a disparu” (I haven't seen this species for which no *exsiccata* remains).

Ursch & Leandri (1954) consider the name to be a *nomen dubium*: “*E. isaloensis* Drake doit être considérée comme espèce douteuse. En effet, il n'est pas possible de retrouver à l'herbier du Muséum les échantillons qui ont servi à la décrire; en outre, la description [...] pourrait aussi laisser penser qu'elle a été établie sur des matériaux hétérogènes” (*E. isaloensis* Drake must be considered as a dubious species. In fact, it hasn't been possible to locate the samples which were used to describe it in the Muséum herbarium; moreover, the description [...] could lead us to think that it was described on heterogeneous material) (see *Euphorbia isaloensis* Leandri).

120. *Euphorbia platyacantha* Drake

Bulletin du Muséum d'Histoire naturelle 9: 45 (1903). — Type: “Route de Ranohira à Ihosy, 4 septembre 1898”, *Grandidier s.n.* (holo-, not located).

REMARKS

This name is of doubtful application as no original material seemed to survive, the protologue does not permit to unambiguously identify this species other than that its belonging to subg. *Lacanthis*.

Taxonomic synonym of *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook. according to Denis (1921).

121. *Euphorbia rubrostriata* Drake
var. *rubrostriata*

Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle 9 (1): 44 (1903) (as “*rubro-striata*”). — Type: “Mont de la Table, septembre 1901”, *Grandidier s.n.* (holo-, not located).

REMARK

Originally published as “*rubro-striata*”, but corrected to “*rubrostriata*” according to McNeill *et al.* (2006: Art. 60.9).

The exact application of this name remains dubious as the original description can match various species with striped cyathophylls growing in this area; hence our choice to list it in the *nomina dubia* section until the taxonomic revision is completed.

122. *Euphorbia rubrostriata*
var. *doulioti* H. Poisson

Recherches sur la flore méridionale de Madagascar: 38 (1912). — Type: “au nord de la partie moyenne du Mangoky, près des sources du Morondava”, *Douliot* (holo-, P! [P00217894]).

REMARK

This name was validly published but is a variety of a dubious name, hence his inclusion in the *incertae sedis*. Furthermore, it is mentioned on the holotype and in the description “suc laiteux rouge” (red latex), the dry type specimen left at P cannot allow to confirm or invalidate this very unlikely assertion (no known red-latexed euphorbia are known, only taxa with a slight yellowish, pinkish or greenish hue are known such as *Euphorbia abdelkuri* from Yemen).

INVALIDLY PUBLISHED NAMES

123. *Euphorbia breoni* Nois.

Annales de Flore et de Pomone 1 (11): 189 (1833).

REMARKS

Illegitimate renaming of *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook. (McNeill *et al.* 2006: Art 52.2), automatic typification of *E. breoni* Nois. on the type of *E. splendens* Bojer ex Hook. (McNeill *et al.* 2006: Art 7.5).

124. *Euphorbia ambovombensis* Rauh & Razaf.
var. *ambatomenaensis* Rebmann

Succulentas 2003 (3): 20 (2003). — Type: “Collines de sables calcaires sud-est d’Amboasary, 2 septembre 1999”.

REMARK

In the original description of the new variety *ambatomenaensis*, Rebmann (2003) does not specify any Herbarium where the designed type is conserved. Therefore, this name of variety is treated as a *nomen invalidum*, according to McNeill *et al.* (2006: Art. 37.7).

125. *Euphorbia leandriana* Boiteau

Bulletin trimestriel de l’Académie malgache 24: 84 (1942). — Type: “Groupe de plantes ramenées de la vallée du Fiherenana par H. Humbert en 1934, sous les n° 22 et 228 [...] Le type de cette espèce est cultivé sur la rocaille du Jardin botanique.”

REMARK

Boiteau based this species on live plants cultivated at the Parc de Tsimbazaza and “ramenées de la vallée du Fiherenana par H. Humbert en 1934 sous les n° 22 et 228”. As there are no traces of Humbert herbarium specimens (nothing in the literature indicates that such specimens pressed from the live plants ever existed), the name published by Boiteau is illegitimate as the name was based on a group of live plants (McNeill *et al.* 2006: Art. 8.4).

126. *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook.
var. *breonii* Leandri

Notulae Systematicae 12: 159 (1946), *nomen*, and *Cactus* (Paris) 34: 114 (1952). — *Euphorbia milii* Des Moul. var. *breonii* Ursch & Leandri, *nom. nud.*, *Mémoires de l’Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 148, fig. 38 (1954).

REMARK

According to Newton (1994), *Euphorbia breonii* Nois. is a superfluous renaming of *E. milii* Des Moul., but the epithet was misapplied to a new species by Leandri (1946: 159), without validly describing the taxon (see the section “Names invalidly published by Leandri (1946) and Ursch & Leandri (1954)”). Consequently, *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook. var. *breoni* and *Euphorbia milii* Des Moul. var. *breonii* were invalidly published *nomina nuda*, excluding the type of their epithet-bringing synonym.

NAMES INVALIDLY PUBLISHED
BY LEANDRI (1946)
AND URSCH & LEANDRI (1954)

Leandri (1946) introduced in an identification key, four new varieties of *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook. without descriptions. In their work on the *Euphorbia* from the botanical garden of Tsimbazaza, Ursch & Leandri (1954) revised this group. They based new combinations on these three names but, this time again, did not give any Latin descriptions. These names are not validly published because they were not and still have not been “accompanied by a Latin description or diagnosis or by a reference to a (...) Latin description or diagnosis” (McNeill *et al.* 2006: Art. 36):

Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *betsileana* Leandri, *Notulae Systematicae* 12: 159 (1946).

Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *breoni* Leandri, *Notulae Systematicae* 12: 159 (1946).

Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *imperatae* Leandri, *Notulae Systematicae* 12: 159 (1946).

Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *tanarivae* Leandri, *Notulae Systematicae* 12: 159 (1946).

Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *vulcani* Leandri, *Notulae Systematicae* 12: 159 (1946).

Euphorbia milii Des Moul. var. *breonii* Ursch & Leandri, *Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 148, fig. 38 (1954).

Euphorbia milii Des Moul. var. *imperatae* (Leandri) Ursch & Leandri, *Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 150 (1954).

Euphorbia milii Des Moul. var. *tanarivae* (Leandri) Ursch & Leandri, *Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 150 (1954).

Euphorbia milii Des Moul. var. *vulcani* (Leandri) Ursch & Leandri, *Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 150 (1954).

NAMES INVALIDLY PUBLISHED
BY W. RAUH *IN* SCHILL (1971)

In a cytotaxonomic study of the genus *Euphorbia* L., Schill (1971) mentions two varieties of spiny euphorbias, announcing their description by Rauh in preparation. These species have never been published and their names are therefore two unpublished *nomina nuda*:

Euphorbia decaryi var. *tulearensis* Rauh, *nomen nudum*
Euphorbia primulifolia var. *isaloensis* Rauh, *nomen nudum* (as “*primulaefolia*”).

INDEX TO VALID AND INVALID NAMES
(ACCEPTED NAMES IN BOLD)

Euphorbia alfredii Rauh

Euphorbia ambarivatoensis Rauh & Bard.-Vauc.

Euphorbia ambovombensis Rauh & Razaf. var. *ambovombensis*

Euphorbia ambovombensis Rauh & Razaf. var. *ambatom-enaensis* Rebmann

Euphorbia analavelonensis Rauh & Mangelsdorff

Euphorbia ankarensis Boiteau

Euphorbia ankazobensis Rauh & Hofstätter

Euphorbia annamariaeae Rauh

Euphorbia antankara Leandri = *Euphorbia pachypodioides* Boiteau

Euphorbia aureoviridiflora (Rauh) Rauh

Euphorbia bailloni Boiss. *ms.* = *Euphorbia boissieri* Baill.

Euphorbia banae Rauh

Euphorbia beharensis Leandri var. *adpressifolia* Rauh

Euphorbia beharensis Leandri var. *beharensis*

Euphorbia beharensis Leandri var. *guillemetii* (Ursch & Leandri) Rauh

Euphorbia beharensis Leandri var. *squarrosa* Rauh

Euphorbia beharensis Leandri var. *truncata* Rauh

Euphorbia berevoensis Lawant & Buddens.

Euphorbia berorohae Rauh & Hofstätter

Euphorbia bevilaniensis Croizat = *Euphorbia milii* Des Moul. var. *bevilaniensis* (Croizat) Ursch & Leandri

Euphorbia biaculeata Denis

Euphorbia boissieri Baill.

Euphorbia boiteaui Leandri

Euphorbia bojeri Hook. = *Euphorbia milii* Des Moul. var. *milii*

Euphorbia brachyphylla Denis

Euphorbia breoni Nois. = *Euphorbia milii* Des Moul. var. *milii*

Euphorbia bulbispina Rauh & Razaf.

Euphorbia capmanambatoensis Rauh

Euphorbia capsaintemariensis Rauh var. *capsaintemariensis* = *Euphorbia decaryi* var. *capsaintemariensis* (Rauh) Cremers

Euphorbia capsaintemariensis Rauh var. *tulearensis* Rauh = *Euphorbia tulearensis* (Rauh) Rauh

Euphorbia capuronii Ursch & Leandri

Euphorbia caput-aureum Denis

Euphorbia cremersii Rauh & Razaf. var. *cremersii*

Euphorbia cremersii Rauh & Razaf. forma *viridiflora* Rauh

Euphorbia cremersii Rauh & Razaf. var. *rakotozafyi* (Cremers) Rauh

- Euphorbia croizatii* Leandri
Euphorbia cylindrifolia Marn.-Lap. & Rauh subsp. *cylindrifolia*
Euphorbia cylindrifolia Marn.-Lap. & Rauh subsp. *tuberifera* Rauh
Euphorbia daphnoides Baill. = *Euphorbia hexadenia* Denis
Euphorbia decaryi Guillaumin var. *ampanihyensis* Creemers
Euphorbia decaryi Guillaumin var. *capsaintemariensis* (Rauh) Creemers
Euphorbia decaryi Guillaumin var. *decaryi*
Euphorbia decaryi Guillaumin var. *robinsonii* Creemers
Euphorbia decaryi Guillaumin var. *spirosticha* Rauh & Buchloh
Euphorbia decaryi Guillaumin var. *tulearensis* Rauh
Euphorbia delphinensis Ursch & Leandri
Euphorbia denisiana Guillaumin
Euphorbia didiereoides Denis ex Leandri
Euphorbia duranii Ursch & Leandri var. *ankaratrae* Ursch & Leandri
Euphorbia duranii Ursch & Leandri var. *duranii*
Euphorbia erythroculata Mangelsdorff
Euphorbia fianarantsoae Ursch & Leandri
Euphorbia fournieri Rebut = *Euphorbia leuconeura* Boiss.
Euphorbia francoisii Leandri var. *crassicaulis* Rauh
Euphorbia francoisii Leandri var. *crassicaulis* forma *rubrifolia* Rauh
Euphorbia francoisii Leandri var. *francoisii*
Euphorbia francoisii Leandri var. *rakotozafyi* Creemers = *Euphorbia cremersii* Rauh & Razaf. var. *rakotozafyi* (Creemers) Rauh
Euphorbia genoudiana Ursch & Leandri
Euphorbia geroldii Rauh
Euphorbia gottlebei Rauh
Euphorbia guillauminiana Boiteau
Euphorbia guillemetii Ursch & Leandri = *Euphorbia beharensis* Leandri var. *guillemetii* (Ursch & Leandri) Rauh
Euphorbia hermanschwartzii Rauh
Euphorbia hexadenia Denis
Euphorbia hislopii N.E.Br. = *Euphorbia milii* Des Moul. var. *hislopii* (N.E.Br.) Ursch & Leandri
Euphorbia hofstaetteri Rauh
Euphorbia horombensis Ursch & Leandri
Euphorbia ibaranae Rauh
Euphorbia isalensis Leandri
Euphorbia isaloensis Drake
Euphorbia itremensis Kimnach & Lavranos
Euphorbia kondoi Rauh & Razaf.
Euphorbia labatii Rauh & Bard.-Vauc.
Euphorbia leandriana Boiteau
Euphorbia leuconeura Boiss.
Euphorbia lophogona Hort. = *Euphorbia leuconeura* Boiss.
Euphorbia lophogona Lam. var. *lophogona*
Euphorbia lophogona Lam. var. *tenuicaulis* Rauh
Euphorbia mabafalensis Denis var. *mabafalensis*
Euphorbia mabafalensis Denis var. *xanthadenia* (Denis) Leandri
Euphorbia mainiana Poiss.
Euphorbia mangelsdorffii Rauh
Euphorbia mangokyensii Denis
Euphorbia melanacantha Drake = *Euphorbia milii* Des Moul. var. *splendens* (Bojer ex Hook.) Ursch & Leandri
Euphorbia milii Des Moul. var. *bosseri* Rauh = *Euphorbia neobosseri* (Rauh) Rauh
Euphorbia milii Des Moul. var. *breonii* Ursch & Leandri
Euphorbia milii Des Moul. var. *imperatae* (Leandri) Ursch & Leandri
Euphorbia milii Des Moul. var. *longifolia* Rauh
Euphorbia milii Des Moul. var. *tananarivae* (Leandri) Ursch & Leandri
Euphorbia milii Des Moul. var. *tulearensis* Ursch & Leandri
Euphorbia milii Des Moul. var. *vulcani* (Leandri) Ursch & Leandri
Euphorbia milii Des Moul. var. *milii*
Euphorbia milii Des Moul. var. *roseana* Marn.-Lap. ex Demoly
Euphorbia milii Des Moul. var. *splendens* (Bojer ex Hook.) Ursch & Leandri
Euphorbia milii Des Moul. var. *tenuispina* Rauh & Razaf.
Euphorbia milii Des Moul. var. *hislopii* (N.E.Br.) Ursch & Leandri
Euphorbia millotii Ursch & Leandri
Euphorbia moratii Rauh var. *moratii*
Euphorbia moratii Rauh var. *antsingiensis* Creemers
Euphorbia moratii Rauh var. *bemarahaensis* Creemers
Euphorbia moratii Rauh var. *multiflora* Rauh
Euphorbia neobosseri (Rauh) Rauh var. *itampolensis* Rauh
Euphorbia neobosseri (Rauh) Rauh var. *neobosseri*
Euphorbia neohumbertii Boiteau var. *aureoviridiflora* (Rauh) Rauh
Euphorbia neohumbertii Boiteau var. *neohumbertii*
Euphorbia pachypodioides Boiteau
Euphorbia parvicathopphora Rauh
Euphorbia paulianii Ursch & Leandri
Euphorbia perrieri Drake var. *elongata* Denis
Euphorbia perrieri Drake var. *perrieri*
Euphorbia platyacantha Drake = *Euphorbia milii* Des Moul. var. *splendens* (Bojer ex Hook.) Ursch & Leandri
Euphorbia primulifolia Baker var. *begardii* Creemers
Euphorbia primulifolia Baker var. *primulifolia*
Euphorbia primulifolia Baker var. *isaloensis* Rauh
Euphorbia quartzitcola Leandri

Euphorbia razafindratsirae Lavranos
Euphorbia razafinjohanyi Ursch & Leandri
Euphorbia retrospina Rauh & Gerold
Euphorbia robivelonae Rauh
Euphorbia rossii Rauh & Buchloh
Euphorbia rubrostriata Drake var. *doulioti* Poiss.
Euphorbia rubrostriata Drake var. *rubrostriata*
Euphorbia sakarahaensis Rauh
Euphorbia splendens Bojer ex Hook. = *Euphorbia milii*
 Des Moul. var. *splendens* (Bojer ex Hook.) Ursch &
 Leandri
Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *betsileana* Le-
 andri
Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *bevilaniensis*
 (Croizat) Leandri = *Euphorbia milii* Des Moul. var.
bevilaniensis (Croizat) Ursch & Leandri
Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *breonii* Leand-
 dri
Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *hislopii* (N.E.Br.)
 Leandri = *Euphorbia milii* Des Moul. var. *hislopii*
 (N.E.Br.) Ursch & Leandri
Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *imperatae* Le-
 andri
Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *tananarivae*
 Leandri
Euphorbia splendens Bojer ex Hook. var. *vulcani* Le-
 andri
Euphorbia subapoda Baill. = *Euphorbia primulifolia*
 Baker var. *primulifolia*
Euphorbia suzannae-marnierae Rauh & Pétignat
Euphorbia tardieuana Leandri
Euphorbia thuarsiana Baill.
Euphorbia tsimbazazae Leandri
Euphorbia tulearensis (Rauh) Rauh
Euphorbia viguieri Denis var. *ankarafantsiensis* Ursch &
 Leandri
Euphorbia viguieri Denis var. *capuroniana* Ursch &
 Leandri
Euphorbia viguieri Denis var. *tsimbazazae* Ursch &
 Leandri
Euphorbia viguieri Denis var. *viguieri*
Euphorbia viguieri Denis var. *vilanandrensis* Ursch &
 Leandri
Euphorbia waringiae Rauh & Gerold
Euphorbia xanthadenia Denis = *Euphorbia mahafalensis*
 Denis var. *xanthadenia* (Denis) Leandri
Euphorbia xambohipotsiensis Ursch & Leandri
Euphorbia xandrefandrovana Ursch & Leandri
Euphorbia xingezalabiana Ursch & Leandri
Euphorbia xlomi Rauh
Euphorbia xmitsimbinensis Ursch & Leandri
Euphorbia xoanieranensis Ursch & Leandri
Euphorbia xzanaharensis Ursch & Leandri
Pedilanthus lycioides Baker = *Euphorbia pedilanthoides*
 Denis
Sterigmanthe bojeri (Hook.) Klotzsch & Garcke = *Eu-*

phorbia milii Des Moul.

Sterigmanthe splendens (Bojer ex Hook.) Klotzsch &
 Garcke = *Euphorbia milii* Des Moul. var. *splendens*
 (Bojer ex Hook.) Ursch & Leandri

Acknowledgements

The authors wish to thank the curators at HEID, K and P for letting them examine their collections. We also thank Jacques Florence, Joël Jérémie and Marc Pignal (P) for discussing typification and nomenclatural issues with them, as well as Michael G. Gilbert and Valéry Malécot for accepting to review the manuscript as well as for their very useful comments. Visits to WAG and HEID was funded by the National Science Foundation Planetary Biodiversity Inventory Grant (DEB-0616533).

REFERENCES

- BALFOUR J.-B. 1877. — Aspects of the Phaenogamic Vegetation of Rodriguez with description of new plants from the Island. *Journal of the Linnean Society, Botany* 16: 21.
- BOISSIER E. 1860. — *Centuriae Euphorbiacearum*. B. Hermann, Lipsiae, 40 p.
- CREMERS G. 1984. — Les euphorbes coralliformes de Madagascar. *Bulletin du Jardin botanique national de Belgique* 54: 23-64.
- CROIZAT L. 1934. — Three new Euphorbiae from Madagascar. *National Horticultural Magazine* 13: 96-99.
- DENIS M. 1921. — *Les euphorbiées des îles australes d'Afrique*. Imprimerie nemourienne André Lesot, Nemours, 152 p.
- HAEVERMANS T. 2003. — *Le genre Euphorbia L. (Euphorbiaceae) à Madagascar: phylogénie et systématique*. Thèse de doctorat, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, France, 240 p.
- HAEVERMANS T., HOFFMANN P., LOWRY II P. P., LABAT J.-N. & RANDRIANJOHANY E. 2004. — Phylogenetic analysis of the Madagascan *Euphorbia* subgenus *Lacanthis* based on ITS sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 91: 247-259.
- LAMARCK J.-B. P. A. DE MONET DE 1786. — *Encyclopédie méthodique. Botanique* 2. Panckoucke, Paris, 774 p.
- LEANDRI J. 1946. — Contribution à l'étude des Euphorbiacées de Madagascar, X. Euphorbes du groupe *Diacanthium*. *Notulae Systematicae* 12: 156-170.
- LEANDRI J. 1953. — Les Euphorbes épineuses et coralliformes de Madagascar. *Cactus*, Paris 35: 141-146.
- MARNIER-LAPOSTOLLE J. 1962. — Une variété nouvelle d'euphorbe de Madagascar. *Cactus*, Paris 73-74: 1-2.

- MARNIER-LAPOSTOLLE J., & LEANDRI J. 1956. — Résurrection de l'*Euphorbia leuconeura* Boiss. *Cactus*, Paris 51: 83-86.
- MCNEILL J., BARRIE F. R., BURDET H. M., DEMOULIN V., HAWKSWORTH D. L., MARHOLD K., NICOLSON D. H., PRADO J., SILVA P. C., SKOG J. E., WIERSEMA J. H., & TURLAND N. J. (eds) 2006. — International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code). Adopted by the Seventeenth International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005. *Regnum Vegetabile* 146: 1-568.
- NEWTON L. E. 1994. — The identity of *Euphorbia milii* var. *breonii*, *nom. nud.* (Euphorbiaceae). *Taxon* 43: 85-87.
- RAUH W. 1988. — New and little known euphorbias from Madagascar. *Cactus and Succulent Journal* (Los Angeles) 60: 184-191.
- RAUH W. 1992a. — A new *Euphorbia* name and a new *Euphorbia* species from the dry forest of Sakaraha, southwest Madagascar (Prov. Toliara). *Cactus and Succulent Journal* (Los Angeles) 64: 264-266.
- RAUH W. 1992b. — Succulent Euphorbias from northern Madagascar. *Collectanea Botanica* 21: 197-210.
- RAUH W. 1992c. — New and little known Euphorbias from Madagascar – *Euphorbia leandriana* P. Boit. and *Euphorbia gottlebei* Rauh sp. nov. *Cactus and Succulent Journal* (Los Angeles) 64: 14-22.
- RAUH W. 1995. — *Succulent and Xerophytic Plants of Madagascar*. Strawberry Press, Mill Valley, 343 p.
- RAUH W. 1998. — *Succulent and Xerophytic Plants of Madagascar*. Strawberry Press, Mill Valley, 385 p.
- RAUH W. 1999. — Weitere neue und wenig bekannte Euphorbien aus Madagaskar. *Tropische und subtropische Pflanzenwelt* 100: 1-35.
- SCHILL R. 1971. — Cytotaxonomische untersuchungen an sukkulenten vertretern der gattung *Euphorbia* L. aus Madagaskar. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 84: 71-78.
- URSCH E. & LEANDRI J. 1954. — Les euphorbes malgaches épineuses et charnues du Jardin botanique de Tsimbazaza. *Mémoires de l'Institut scientifique de Madagascar*, série B, Biologie végétale 5: 109-186.

Submitted on 4 February 2008;
accepted on 28 September 2009.

Annexes du Chapitre 2

Annexe II.1. : Tableau récapitulatif des 19 paramètres bioclimatiques utilisés pour les analyses de modélisation et d'évolution de niches écologiques (source : Maxime Lanciaux)

Variable climatique	Abréviation
T°C annuelle moyenne	Mean annual T
Amplitude moyenne de T°C (moyenne des différences entre les T°C maximales et minimales mensuelles)	Mean monthly T range
Isothermalité (amplitude moyenne de T°C pendant le jour exprimée en pourcentage de l'amplitude de T°C journalière)	Isothermality
Saisonnalité de la T°C (écart type de la température moyenne mensuelle * 100)	T seasonality
T°C maximale du mois le plus chaud	Max T warmest month
T°C minimale du mois le plus froid	Min T coldest month
T°C moyenne du trimestre le plus humide	T wettest 1/4
T°C moyenne du trimestre le plus sec	T driest 1/4
T°C moyenne du trimestre le plus chaud	T warmest 1/4
T°C moyenne du trimestre le plus froid	T coldest 1/4
Amplitude annuelle de la T°C (différence entre la T°C maximale du mois le plus chaud et la T°C minimale du mois le plus froid)	T annual range
Moyenne annuelle des précipitations	Mean annual P
Précipitations du mois le plus humide	P wettest month
Précipitations du mois le plus sec	P driest month
Saisonnalité des précipitations (coefficient de variation des précipitations mensuelles moyennes)	P seasonality
Précipitations du trimestre le plus humide	P wettest 1/4
Précipitations du trimestre le plus sec	P driest 1/4
Précipitations du trimestre le plus chaud	P warmest 1/4
Précipitations du trimestre le plus froid	P coldest 1/4

00940	XA26	E. sp. 37	+	+	+	+	+	+	+	+	6
00941	XA27	E. sp. 38	+	+	+	+	+	+	+	+	6
01548	XA6a	E. sp. 39	+	+	+	+	+	+	+	+	6
00142	TH279	E. sp. 40	+	+	+	+	+	+	+	+	6
00143	TH282	E. sp. 41	+	+	+	+	+	+	+	+	6
00965	XA55	E. mananarensis 1	+	+	+	+	+	+	+	+	7
01582	XA55a	E. mananarensis 2	+	+	+	+	+	+	+	+	7
00002	TH445	E. mandravioky 1	+	+	+	+	+	+	+	+	7
01360	XA108	E. mandravioky 2	+	+	+	+	+	+	+	+	7
00097	Rauh73350	E. pachysantha	+	+	+	+	+	+	+	+	7
00401	Heid142649/227	E. barnhartii	+	+	+	0	+	+	+	+	8
00206	2005-u-272/33469	E. cactus	+	+	+	+	+	+	+	+	8
00397	TH449	E. cattimandoo	+	+	+	+	+	+	+	+	8
00381	TH465	E. mayuranathanii	+	+	+	+	+	+	+	+	8
00392	TH454	E. sessiliflora	+	+	+	+	+	+	+	+	8
00212	1950-u-160/3619	E. tenuirama	+	+	+	+	+	+	+	+	8
00382	TH464	M. hirsutum	+	0	+	+	+	+	+	+	9
00226	s.n.	M. sp. 46	+	+	+	+	+	+	+	+	9
00410	W121	M. spinescens	+	+	+	+	+	+	+	+	9
Nombre de séquences manquantes			0	16	0	2	0	2	0	16	
Nombre de séquences obtenues			280	272	280	279	280	279	279	272	

Annexe V.1. : Liste des échantillons séquencés pour les 8 régions de l'ADN qui ont servi à reconstruire la topologie du clade GDD. La nature et le nombre des séquences obtenues pour chacune des régions est fournie sous forme de tableau : + séquence obtenue ; **MB** monobrin ; **0** séquence non obtenue / non exploitable. Cette liste est triée par clade et par nom d'espèces. **Clades** : 1 = section *Tirucalli*, 2 = section *Deuterocalli*, 3 = sous-genre *Esula*, 4 = section *Goniostema*, 5 = sous-genre *Chamaesyce*, 6 = section *Denisophorbia*, 7 = section *Pachysanthae*, 8 = section *Euphorbia*, 9 = section *Monadenium* (ex genre *Monadenium*).

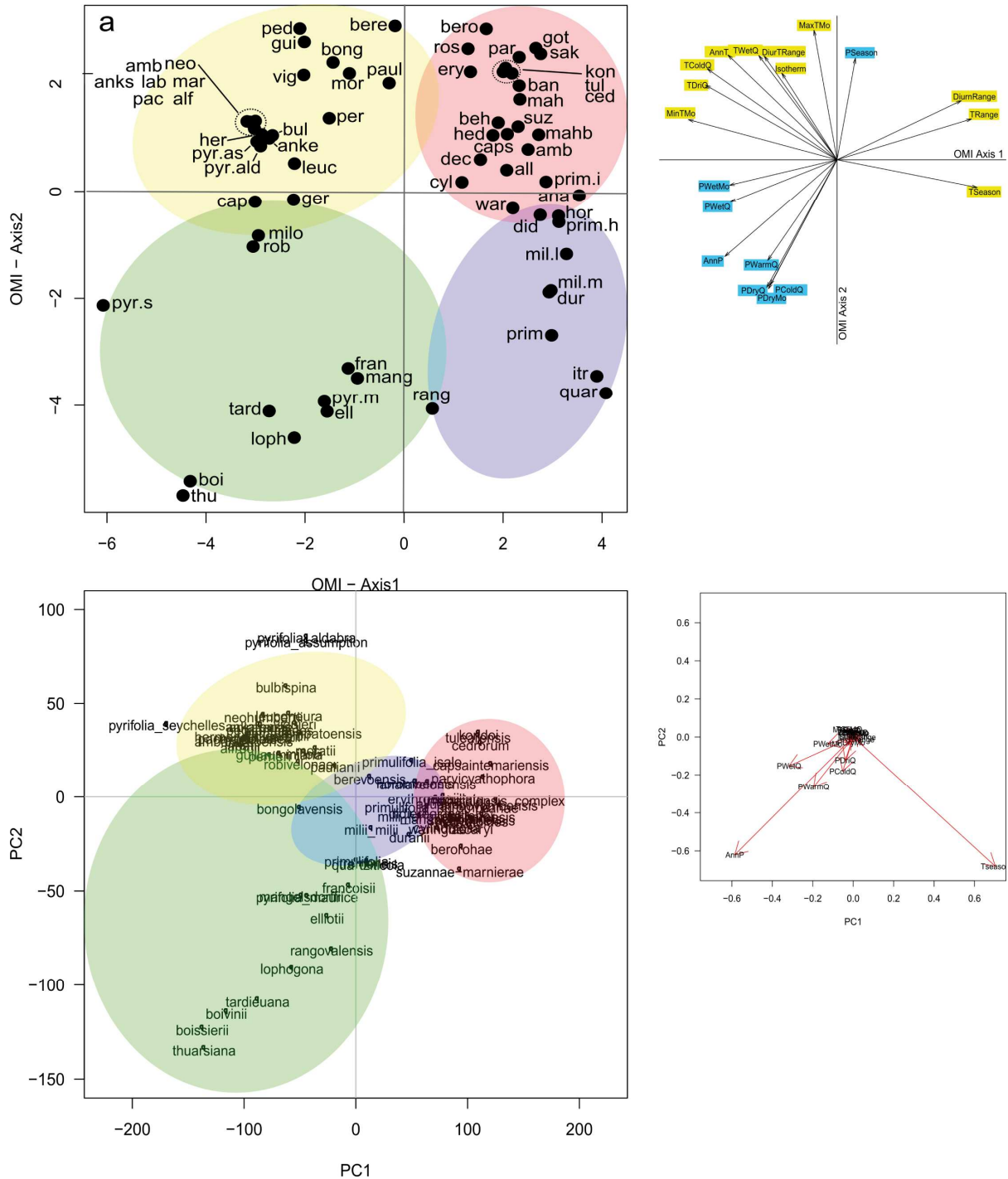
Annexes du Chapitre 7

Supplementary Figure 1 : Circular phylogeny showing the distribution of the 67 samples selected for trait analyses, from a total of 279 samples available.



Supplementary Figure 1. Circular phylogeny showing the distribution of the 67 samples selected for trait analyses, from a total of 279 samples available. Black branches indicate parts of the larger phylogeny captured by our subsample (e.g., multiple samples were available for a species that turns out to be clearly monophyletic). Stars indicate the location of the 67 samples. Grey branches indicate parts of the larger phylogeny not captured by this subsample. The seven subclades emphasized in the text are labeled here.

Supplementary Figure 2 : Comparison of PCA and OMI.



Supplementary Figure 2. Comparison of PCA and OMI. PCA more efficiently captured the variation in the climate data, but our goal was to examine trait-climate relationships, rather than to display climatic variation in the most compact form possible.

Supplementary Table 1 : Complete listing of the *Euphorbia* species included in this study.

Species	Abb	MA T	MA P	Leaves	Tuber	Growth Form
alfredii	alf	26.0	1674	Not succulent Strongly	Absent	Cactiform
alluaudii	all	22.5	780	succulent	Absent	Tree
ambarivatoensis	amba	26.0	1635	Not succulent Strongly	Absent	Shrub Dwarf
ambovombensis	ambo	23.0	559	succulent	Present	chamaephyte
analavelonensis	ana	20.5	760	Not succulent	Absent	Shrub
ankaranae	anke	25.6	1486	Not succulent	Absent	Tree
ankarensis	anks	25.9	1502	Not succulent	Absent	Cactiform
banae	ban	24.0	484	Not succulent Strongly	Present	Shrub
beharensis	beh	24.0	637	succulent	Present	Shrub
berevoensis	bere	26.5	1106	Not succulent	Present	Shrub
berorohae	bero	25.9	791	Not succulent	Present	Shrub
boissieri	bois	23.7	2894	Not succulent	Absent	Cactiform
bongolavensis	bong	26.6	1500	Not succulent	Absent	Tree
bulbispina	bulb	25.3	1193	Not succulent	Absent	Shrub
capmanambatoensis	capm	25.5	1370	Semi-succulent Strongly	Absent	Cactiform Dwarf
capsaintemariensis	caps	23.5	422	succulent Strongly	Present	chamaephyte
cedrorum	ced	23.9	396	succulent Strongly	Absent	Tree Dwarf
cylindrifolia	cyl	23.6	874	succulent Strongly	Present	chamaephyte Dwarf
decaryi	dec	23.9	730	succulent	Present	chamaephyte
didiereoides	did	21.0	856	Not succulent	Absent	Shrub
duranii	dur	19.6	1010	Not succulent	Absent	Shrub
elliottii	ell	22.7	1821	Semi-succulent	Present	Tree
erythroculata	ery	24.7	749	Not succulent Strongly	Present	Shrub Dwarf
francoisii	fran	22.9	1607	succulent	Present	chamaephyte
geroldii	ger	24.4	1396	Semi-succulent	Absent	Shrub
gottlebei	got	24.1	674	Not succulent	Present	Shrub
guillauminiana	gui	26.5	1565	Not succulent	Absent	Shrub
hedyotoides	hed	23.8	708	Not succulent	Present	Tree
hermanschwartzii	herm	25.6	1603	Not succulent	Absent	Cactiform
horombensis	hor	20.5	840	Not succulent	Absent	Cactiform
itremensis	itr	17.1	1322	Not succulent	Present	True geophyte
kondoi	kon	24.1	376	Not succulent	Present	Shrub Dwarf
labatii	lab	26.0	1655	Not succulent	Present	chamaephyte
leuconeura	leu	24.6	1278	Not succulent	Absent	Cactiform
lophogona	lop	22.9	2172	Not succulent	Absent	Cactiform
mahabobokensis	mahb	22.6	757	Not succulent	Present	Tree

mahafalensis complex	mahf	24.0	493	Not succulent	Present	Shrub
mangelsdorffii	mang	21.6	1842	Semi-succulent	Absent	Shrub
martinae	mar	25.9	1610	Not succulent	Absent	Tree
milii_longifolia	mil.l	19.8	918	Not succulent	Absent	Shrub
milii_milii	mil.m	18.9	1183	Not succulent	Absent	Shrub
millotii	mil	25.2	1420	Semi-succulent	Absent	Cactiform Dwarf
moratii	mor	25.5	1320	Not succulent	Present	chamaephyte
neohumbertii	neo	25.9	1434	Semi-succulent	Absent	Cactiform
pachypodioides	pach	25.9	1627	Not succulent	Absent	Cactiform Dwarf
parvicyathophora	parv	24.2	477	Strongly succulent	Present	chamaephyte
paulianii	pau	25.1	1293	Not succulent	Absent	Cactiform
pedilanthoides	ped	26.5	1540	Not succulent	Present	Shrub
perrieri	per	24.6	1563	Not succulent	Absent	Cactiform
primulifolia	prim	18.3	1376	Not succulent	Present	True geophyte
primulifolia_horombe	prim.h	20.6	847	Not succulent	Present	True geophyte
primulifolia_isalo	prim.i	21.2	792	Not succulent	Present	True geophyte
pyrifolia_aldabra	pyr.ald	26.0	1077	Not succulent	Absent	Tree
pyrifolia_assumptio	pyr.as	26.1	1085	Not succulent	Absent	Tree
pyrifolia_maurice	pyr.m	22.5	1852	Not succulent	Absent	Tree
pyrifolia_seychelles	pyr.s	26.0	2213	Not succulent	Absent	Tree
quartziticola	qua	16.6	1332	Not succulent	Present	True geophyte
rangovalensis	rang	19.9	1804	Not succulent	Present	Tree
robivelonae	rob	25.3	1487	Not succulent	Absent	Shrub
rossii	ros	25.2	717	Not succulent	Present	Shrub
sakarahaensis	sak	24.1	666	Not succulent	Present	Shrub Strongly Dwarf
suzannae-marnierae	suz	23.3	875	Strongly succulent	Present	chamaephyte
tardieuana	tar	23.1	2412	Semi-succulent	Absent	Shrub
thuarsiana	thu	23.6	2903	Semi-succulent	Absent	Tree Strongly Dwarf
tulearensis	tul	24.0	387	Strongly succulent	Present	chamaephyte
viguieri	vig	26.1	1324	Not succulent	Absent	Cactiform Dwarf
waringiae	war	21.9	886	Strongly succulent	Present	chamaephyte

Supplementary Table 1. Complete listing of the *Euphorbia* species included in this study, the species abbreviations used in figures, the average climatic conditions among localities (mean annual temperature, MAT, in degrees Celsius, and mean annual precipitation, MAP, in mm), and character states. Character states in bold are those contrasted against the other state(s) in phylogenetic logistic regression.